

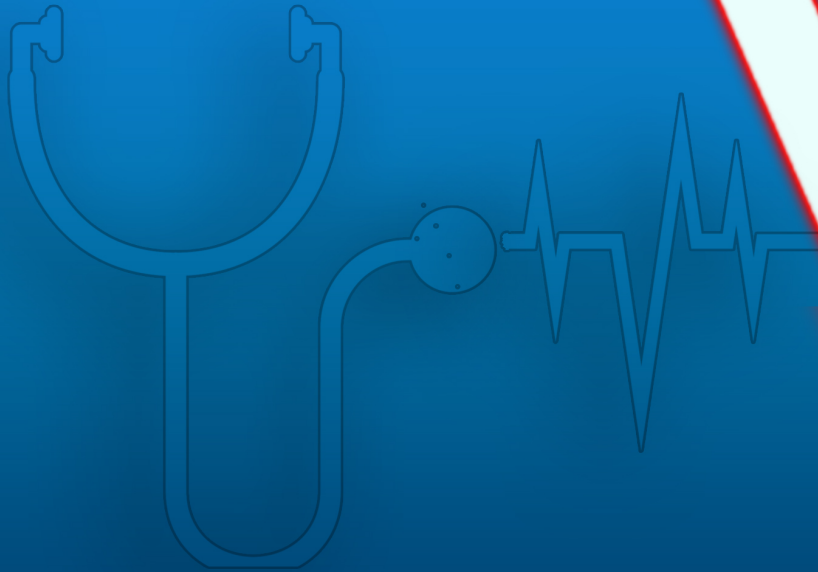
e- ISSN : 2757-5179



BOZOK

VETERINARY

SCIENCES



Volume 2

Issue 2

December

2021

**ON BEHALF ON YOZGAT BOZOK UNIVERSITY FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
OWNER**

Prof. Dr. Ahmet KARADAĞ, Rektor

EDITOR-IN-CHIEF (BAŞ EDITÖR)

Dr. Akın KIRBAŞ, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

EDITORIAL BOARD (EDİTÖR KURULU)

Dr. Elmas ULUTAŞ, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Dr. Güvenç GÖKALP, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Dr. Tünay KARAN, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Dr. Sinan VICİL, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Dr. İmran GARİP, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

ENGLISH ADVISER (İNGİLİZCE DANIŞMANI)

Dr. Mehmet Ertuğ YAVUZ, Yozgat Bozok Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu-YOZGAT

STATISTICS ADVISER (İSTATİSTİK DANIŞMANI)

Arş. Gör. Güven GÜNGÖR, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi-BİNGÖL

TYPESETTER AND DESIGN (DİZGİ VE TASARIM)

Arş. Gör. Nevzat Emre ASLAN, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Arş. Gör. Serkan KÖKKAYA, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

WEB DESIGN (WEB TASARIMI)

Dr. Güvenç GÖKALP, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Arş. Gör. Emre SAYAR, Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

BROADCAST BOARD (YAYIN KURULU)

Dr. İsmail Hakkı NUR, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ

Dr. Çağrı Çağlar SİNMEZ, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ

Dr. Gültekin ATALAN, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ

Dr. Osman KÜÇÜK, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi -KAYSERİ

Dr. Vehbi GÜNEŞ, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ

Dr. Zafer GÖNÜLALAN, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ

NATIONAL ADVISORY BOARD (ULUSAL DANIŞMA KURULU)

- Dr. Ali Cesur ONMAZ**, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ
Dr. Alper SEVİMLİ, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi-AFYONKARAHİSAR
Dr. Emin ŞENGÜL, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM
Dr. Enver YAZAR, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KONYA
Dr. Didem PEKMEZCİ, Ondokuzmayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi-SAMSUN
Dr. Güner KÜÇÜKBAYRAM, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ
Dr. Kürşat ALTAY, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi-SİVAS
Dr. Mehmet ELMALI, Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi- HATAY
Dr. Muammer ELMAS, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi- KONYA
Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM
Dr. Mustafa ARICAN, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KONYA
Dr. Mustafa İSSİ, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ELAZIĞ
Dr. Ramazan ERENLER, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi-TOKAT
Dr. Selim KUL, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ELAZIĞ
Dr. Serkan YILDIRIM, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM
Dr. Sevgi DURNA DAŞTAN, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi-SİVAS
Dr. Siyami KARAHAN, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KIRIKKALE
Dr. Suat ERDOĞAN, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi-EDİRNE

INTERNATIONAL ADVISORY BOARD (ULUSLARARASI DANIŞMA KURULU)

- Dr. Askarbek TULEBAYEV**, Manas University, Faculty of Veterinary Medicine-KYRGYZSTAN
Dr. Atiqur RAHMAN, Jamia Millia Islamia University, Faculty of Natural Sciences-INDIA
Dr. Csilla TOTHOVA, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice-SLOVAKIA
Dr. Levan MAKARADZE, Georgian State Agrarian University-GEORGIA
Dr. Maged El-ASHKER, Mansoura University, Faculty of Veterinary Medicine-EGYPT
Dr. Oskar NAGY, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice-SLOVAKIA
Dr. Rais AHMAD, Cholistan University of Veterinary and Animal Sciences-PAKISTAN
Dr. René van den HOVEN, Vienna Veterinary University-AUSTRIA
Dr. Ryane E. ENGLAR, College of Veterinary Medicine, University of Arizona-USA
Dr. Salah AKKAL, University of Mentouri Constantine, Phytochemistry and Physico-chemical and Biological Analysis Laboratory- ALGERIA
Dr. Zehra HAJRULAI-MUSLIU, Skopje Faculty of Veterinary Medicine-MACEDONIA



Bozok Veterinary Sciences

2021; 2 (2)

BU SAYININ HAKEM KURULU

Prof. Dr. Armağan Erdem ÜTÜK-Çukurova Üniversitesi Ceyhan Veteriner Fakültesi-ADANA

Prof. Dr. İbrahim BALKAYA- Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM

Prof. Dr. Cahit KALKAN-Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ELAZIĞ

Prof. Dr. Kürşat ALTAY-Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi-SİVAS

Prof. Dr. Mehmet ELMALI-Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi-HATAY

Prof. Dr. Mehmet GÜL-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM

Prof. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM

Prof. Dr. Mustafa ATASEVER-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM

Prof. Dr. Mustafa İSSİ-Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ELAZIĞ

Prof. Dr. Önder DÜZLÜ- Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ

Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN- Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KAYSERİ

Prof. Dr. Zehra SELÇUK-Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi-SAMSUN

Doç. Dr. Didem PEKMEZCİ-Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi-SAMSUN

Doç. Dr. Hande GÜRLER-Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi-SAMSUN

Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN- Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-AYDIN

Doç. Dr. Mehmet Cemal ADIGÜZEL-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM

Doç. Dr. Oktay YILMAZ-Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi-AFYONKARAHİSAR

Doç. Dr. Songül ERDOĞAN-Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi-AYDIN

Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN-Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi-VAN

Dr. Öğr. Üyesi Damla Tuğçe OKUR-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM

Dr. Öğr. Üyesi Elmas ULUTAŞ-Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Dr. Öğr. Üyesi Güvenç GÖKALP-Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Dr. Öğr. Üyesi İhsan KISADERE-Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi-BALIKESİR

Dr. Öğr. Üyesi İmran GARİP-Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi-YOZGAT

Dr. Öğr. Üyesi Mümin Gökhan ŞENOCAK-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-
ERZURUM

Dr. Öğr. Üyesi Özlem DURNA AYDIN-Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi-KARS

Dr. Öğr. Üyesi Şükrü DEĞİRMENÇAY-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-
ERZURUM

Dr. Öğr. Üyesi Uğur ERSÖZ-Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi-ERZURUM



Bozok Veterinary Sciences**İçindekiler/Contents**

(2021) 2, (2)

<i>Araştırma Makaleleri/Research Articles</i>	Sayfa / Page
❖ Alali F, Sevinç F, Ceylan O . <i>Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis in Konya Province, Turkey</i>	23-28
❖ Alali F, Sevinç F, Babür C, Ceylan O. <i>Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis by Sabin Feldman Dye Test in Konya Province, Turkey</i>	29-33
<i>Derlemeler / Review Articles</i>	
❖ Gökalp G, Kırbaş A. <i>Kedilerin Atopik Sendromuna Güncel Yaklaşım</i>	34-40
❖ Köse S, Saçaklı P. <i>Süt İneklerinde Sıcak Stresinin Etkileri ve Beslenme Stratejileri</i>	41-46
❖ Doğan N, Doğan C. <i>Mucizevi Bitki Kenevir'in (Cannabis sativa L.) Gıda Endüstrisinde Kullanımı</i>	47-56
❖ Kaya S, Akın G, Koçak G, Kaçar C. <i>Anti-Müllerian Hormonun Dişi Kedi ve Köpeklerde Klinik Kullanımı</i>	57-61
❖ Aydın Ö, Kırbaş A. <i>Köpeklerin Parvovirüs Enfeksiyonunda Tedavi Uygulamalarına Güncel Yaklaşım</i>	62-72
❖ Bedir AG, Turgut F. <i>Veteriner Fitoterapide Yara Bakımında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler</i>	73-79
❖ Turgut F, Bedir AG. <i>Kırık İyileşmesinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisinin Kullanılması</i>	80-84
❖ Gökalp AB. <i>Sığır Mastitislerinde Yaz Mastitisinin Yeri</i>	85-95
❖ Kandır S. <i>Nörogenetik Hastalıklarda Alternatif Model Organizma: Köpekler</i>	96-100
❖ Aydın Ö, Aktaş MS. <i>Kedi ve Köpeklerde Kullanılan Bazı İmmünespresif İlaçlar ve Kullanım Amaçları</i>	101-107

❖ Aydın Ö, Aktaş MS. <i>Hayvanlarda Kullanılan Bazı İmmunstimülanların Genel Özellikleri ve Farklı Hayvan Türlerinde Yapılan Çalışmalar</i>	108-114
❖ Dışhan A, Yetim H, Gönülalan Z. <i>Pastırma Mikrobiyatısı</i>	115-125





Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis in Konya province, Turkey*

Firas ALALI¹, Ferda SEVINÇ², Onur CEYLAN²

¹University of Kerbala, College of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Parasitology, Karbala/ IRAQ

²University of Selcuk, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Parasitology, Konya/TURKEY

◆ Geliş Tarihi/Received: 18.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 29.11.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Alali F, Sevinç F, Ceylan O. Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis In Konya province Turkey. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):23-28.

Abstract: *Toxoplasma gondii* is a parasitic intracellular protozoan that causes toxoplasmosis in dogs and can infect a variety hosts in the environment. The current study was conducted in Konya province, Turkey, to detect *T. gondii* infection in shelter dogs. Between July 2017 and July 2018, 334 plasma samples were taken from dogs of both genders (males and females) aged 0-1 and 1-3 years. The samples were examined using ELISA to identify *T. gondii*-specific antibodies in plasma using recombinant TgSAG2. Anti-*T. gondii* antibodies were detected in 33.8% of the dogs in the study. Males and females had a seroprevalence of 40.3% and 30%, respectively. No statistically significant difference was observed between the genders. There was also no substantial difference across age groups. Seropositivity rate was 21.4% in 0-1 year old dogs and 34.3% in 1-3 year old dogs. In animals exhibiting clinical symptoms, the seropositivity rate was found to be 36% (22/61). A statistically significant difference was also not found in the infection rates in new and old entry dogs.

Keywords: ELISA, Shelter dogs, Serology, Turkey

Türkiye'nin Konya İlindeki Köpeklerde Toxoplasmosisin Seroprevalansı

Özet: *Toxoplasma gondii* köpeklerde toksoplazmozise neden olan ve farklı konakları da enfekte edebilen hücre içi bir protozoon parazittir. Bu çalışma Konya ilinde barınak köpeklerinde *T. gondii*'nin seroprevalansını belirlemek amacıyla yürütüldü. Temmuz 2017-Temmuz 2018 döneminde 0-1 ve 1-3 yaşlar arasındaki her iki cinsiyetteki köpeklerden toplam 334 plazma örneği toplandı. Plazma örnekleri spesifik *T. gondii* antikorlarını saptamak için rekombinant TgSAG2 tabanlı indirekt ELISA ile analiz edildi. Çalışmadaki köpeklerin %33,8'inde anti-*T.gondii* antikorları tespit edildi. Seroprevalans oranı erkek ve dişi köpeklerde sırasıyla %40,3 ve %30 olarak belirlendi. Cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Ayrıca yaş grupları arasında önemli bir fark yoktu. 0-1 yaşındaki köpeklerde seropozitiflik oranı %21,4 ve 1-3 yaşındaki köpeklerde ise %34,3 olarak tespit edildi. Klinik semptom gösteren hayvanlarda seropozitiflik oranı %36 (22/61) olarak belirlendi. Yeni ve eski girişli köpeklerdeki enfeksiyon oranlarında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Anahtar Kelimeler: ELISA, Barınak köpeği, Seroloji, Türkiye

1. Introduction

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) is an intracellular protozoan parasite that infects all warm-blooded vertebrates, including canines, worldwide. The definitive host cats (Felidae) play an important role in the spread of oocysts, while intermediate hosts are responsible for the parasite's tachyzoite and bradyzoite stages (1, 2). Dogs are considered a mechanical vector or a possible source of toxoplasmosis transmission to humans because they may swallow cat faeces or roll in cat foul-smelling material that contains oocysts. In certain parts of the globe, dog meat is eaten by humans (3, 4). Toxoplasmosis is an uncommon primary illness in dogs, and it is usually caused by immunosuppression and a lack of immunization against the *Canine distemper virus* (CDV). Toxoplasmosis symptoms include broad clinical indicators like fever, anorexia, dyspnea, and more specialized symptoms like neurological, respiratory, cutaneous, or ophthalmic involvement.

Cutaneous symptoms are often related to immunosuppression after corticosteroid medication and transplantation. However, the most common coccidian producing skin lesion in dogs is *Neospora caninum*, which should be investigated in the differential diagnosis (32).

Toxoplasma gondii infection in dogs is widespread globally, with prevalence rates varying from 0% to 100% in various regions (1, 5). Akçay et al. (6) reported the first case of canine toxoplasmosis in Turkey as a clinical and histological diagnosis in a dog. Apical complexes, including secretory organelles such as rhoptries (ROPs), micronemes (MICs), dense granules (GRAs), and surface antigens (SAGs, such as SAG1 and SAG2), are present in the invasive stages of apicomplexan protozoan parasites (7). There are four forms of SAG2, two in acute cases (SAG2A, B) and two in chronic cases (SAG2C, D). Tachyzoite expresses SAG2A and SAG2B, which are present throughout the acute phase of the

✉: firmas.o@uokerbala.edu.iq

* This research was a part of PhD thesis of the Firas ALALI/Konya-2019, under the project number/17102030, supported by Selcuk University Scientific Research Projects Coordination (BAP) and Iraqi Ministry of Higher Education and Scientific Research (MOHESR).

illness. During the chronic stage of infection, bradyzoites express SAG2C and SAG2D (8, 9).

Direct, indirect, sandwich, and competitive enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) are the four primary forms of ELISAs. Different diagnostic performance, including sensitivity and specificity, was found in serum, meat juice, and milk samples, depending on the sample type. Different antigens are used in different ELISAs, including native, recombinant, and chimeric antigens (10). Previously, tachyzoite-based products or complete tachyzoites were utilized as native antigens in ELISAs. ELISA tests based on a recombinant surface protein antigen 2 (rSAG2) have a high sensitivity and specificity that may approach 100%, making them useful as a toxoplasmosis diagnostic tool (11, 12). This research seeks to identify specific antibodies against *T. gondii* infection in shelter dogs at the Municipality of Veterinary Branch Office (Shelter Center) in Konya province, Turkey, utilizing indirect-ELISA based on a recombinant surface protein antigen 2 (rSAG2) as a novel diagnostic tool.

2. Materials and Methods

2.1. Study area

In July 2017, canine blood samples were obtained from the Konya Metropolitan Municipality shelter. The clinical evaluations of 334 dogs of both sexes were documented. In brief, 5 ml of blood was drawn from the ramus dorsal of *Vena cephalica* or *Vena saphena parva* and placed in anticoagulant tubes. The blood was then centrifuged at 2500 rpm for 15 min to separate the plasma, then kept in a deep freezer (-20°C) until used. Indirect ELISA was used to determine plasma *T. gondii* specific IgG antibodies at Selcuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology Laboratory, Turkey. All procedures were carried out in accordance with the ethical guidelines of the Experimental Animals Production and Research Center Ethics Committee of Veterinary Faculty of Selcuk University (Decision number: SUVDAMEK-2017/46).

2.2. In vitro production of the recombinant SAG2 antigen (rTgSAG2)

The ELISA relies on recombinant TgSAG2, generated from tachyzoites in Obihiro University, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, National Research Center for Protozoan Diseases Laboratory in Japan, then imported to Turkey and utilized as an antigen in the ELISA test. The recombinant TgSAG2-GST protein utilized in this study was generated using the previously reported approach (13). The PCR product of the truncated TgSAG2 gene was transformed into the *E. coli* BL-21 strain following insertion into the DNA of the pGEX-4T vector (Amsterdam Pharmacia Biotech, San Francisco, CA., U.S.A.). By

providing the optimum in vitro growth media for transformed *E. coli* BL21 cells, the TgSAG2 protein was induced to express. In brief, 10 ml of newly transformed *E. coli* cells were cultivated at 37°C at 250 rpm in 1L LB media with 50 µg/ml ampicillin until the optical density (OD) at 600 nanometers reached 0.5. The recombinant SAG2 antigen expression was stimulated using 5 mM isopropyl-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) and incubated overnight at 27°C, after which the cells were continued to proliferate. The culture of *E. coli* was centrifuged at 8,000 g for 15 min and then the cell pellet in TNE buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 100 mM NaCl, two mM EDTA, and 1% Triton X-100), 50 mg/ml lysozyme reconstituted in a buffer containing 1% (w/v) N-Lauroylsarcosine sodium and protease inhibitors. This recombinant protein was purified using Glutathione-Sepharose 4B beads (Amersham Pharmacia Biotech).

2.3. Indirect ELISA assay

A 40% BCA protein kit was used to determine the concentration of expressed proteins. TgSAG2-GST proteins were diluted in coating buffer (0.05 M carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.6) at a 2-4 µg/ml concentration for the indirect ELISA assay. The ELISA plate wells were coated with 100 µl of antigen and incubated at 4°C overnight. After pouring the coating solution, the plates were blocked for 1 h at 37°C with PBS containing 3% skim milk powder. Following a PBST wash, serum samples (diluted 1:100) were added to the plates and incubated at 37°C for 1 h. Horseradish peroxidase (HRP)-bound anti-dog IgG (1:4000) (Bethyl, Montgomery, AL, USA) was added, and it was followed by ABTS [2,2'-azino bis (3-ethylbenzthiazolinesulfonic acid)] (Sigma, USA, Louis, MO, USA). The colour development was seen at room temperature, and 50 µl of stop solution (2 M Sulfuric acid) was added. A microplate reader (ELISA reader/Rayto Microplate Reader, Model: RT-2100C) was used to measure optical density (OD) at 415 nm. The ELISA results were evaluated for each sample by subtracting the GST protein's cut-off value of OD = 415 from the recombinant TgSAG2's OD = 415 value. Cut-off values were calculated using negative dog serum samples by multiplying the mean value of negative sera measured at OD = 415 by three times the standard deviation. When the value of the tested sample exceeded the cut-off value, the sample was considered positive.

2.4. Clinical manifestations and co-infection

Various clinical symptoms, including hindlimb paralysis and atrophy, skin lesions, nasal discharges, vomiting, diarrhoea, tick infestations, weakness, and nervous system abnormalities, were recorded.

2.5. Statistical analyses

The chi-square test was used to evaluate whether there was a correlation between infection and age, gender, clinical symptoms, and new and old entrance dogs. When the probability (P) value was less than 0.05, the differences were considered statistically significant. SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) statistical program was used to analyze all data.

3. Results

The overall infection rate in the 334 dogs examined was 33.8%. Males accounted for 40.3% of the infection, while females accounted for 30%. The distribution of infection according to genders is indicated in Table 1 and Figure 1.

Table 1: Distribution of infection according to genders

Gender	Number of animals	(-)	(+)	%
Male	124	74	50	40.3
Female	210	147	63	30
Total	334	221	113	33.8

(P>0.05)

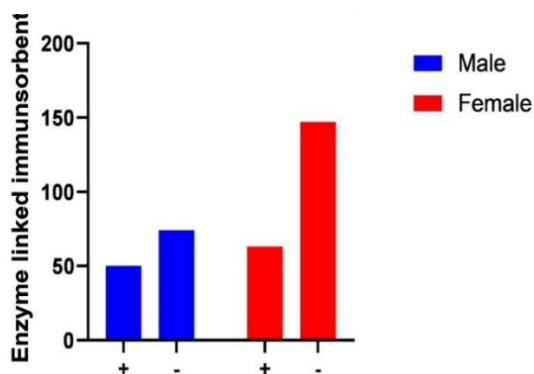


Figure 1: The number of seropositive dogs according to genders

The study included 334 dogs of both genders from the Konya Metropolitan Municipality Veterinary Branch Directorate (Shelter Centre). General clinical results for all dogs were recorded based on age and gender. Anticoagulant tubes were used to collect blood samples (3-5 mL), and plasma was separated for serological analysis. The ELISA detection of *T. gondii* antibodies is based on recombinant SAG2 protein. Infection status by age is shown in Table 2 and Figure 2.

Table 2: Distribution of infection according to ages

Ages	Number of animals	(-)	(+)	%
0-1	14	11	3	21.4
1-3	320	210	110	34.3
Total	334	221	113	33.8

(P>0.05)

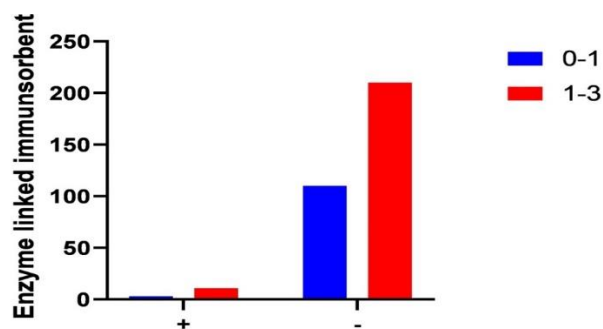


Figure 2: The number of seropositive dogs according to ages

Seropositivity was 21.4% (3/14) in the 0-1 age group and 34.3% (110/320) in the 1-3 age group. This research documented various clinical symptoms, including hind limb paralysis and atrophy, skin lesions, nasal discharges, vomiting, diarrhea, tick infestations, weakness, and nervous system disorders. The relationship between ELISA and clinical results is shown in Table 3 and Figure 3.

Table 3: The relationship of the infection with clinical symptoms

Clinical symptoms	Number of animals	(-)	(+)	%
A	1	0	1	100
B	32	22	10	31.2
C	18	11	7	38.8
D	9	6	3	33.3
E	1	0	1	100
Total	61	39	22	36

(P>0.05)

A: Hindlimbs paralysis and atrophy; B: Nasal discharges; C: Skin lesions; D: Tick Infestations; E: hindlimbs paralysis and atrophy and skin lesions

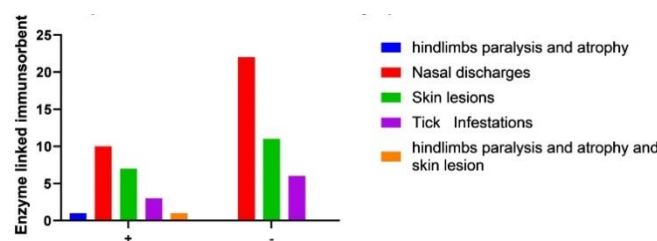


Figure 3: The number of seropositive dogs according to clinical symptoms determined in dogs

Different clinical signs were shown in 36% (22/61) of the dogs. Some animals were very seropositive, with 100% (1/1) having hind limb paralysis and atrophy, 38.8% (7/18) having skin lesions, 33.3% (3/9) having tick infestation, 31.2% (10/32) having nasal discharges, and 100% (1/1) having hind limb paralysis, atrophy, and skin lesions. The seropositivity status of new and old entrance dogs was determined using an ELISA test. Seropositivity was

identified in 14/44 (31.8%) of freshly entered dogs and 99/290 (34.1%) of dogs with previous entrance (Table 4 and Figure 4).

Table 4: The relationship of the infection with new and old entry dogs

Status type	Number of animals	(-)	(+)	%
New entries	44	30	14	31.8
Old entries	290	191	99	34.1
Total	334	221	113	33.8

(P>0.05)

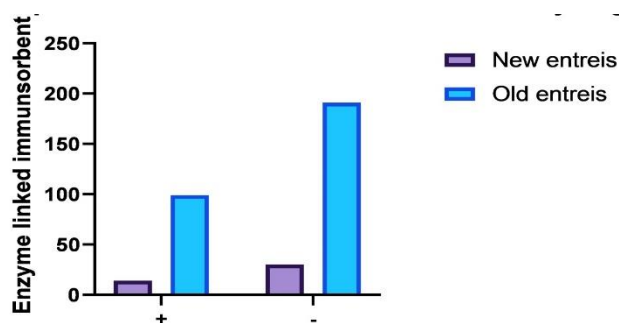


Figure 4: The number of seropositive dogs according to new and old entry dogs

4. Discussion and Conclusion

Toxoplasma gondii is a coccidian obligate intracellular protozoan parasite capable of infecting almost all warm-blooded animals, including humans and dogs (1). Canine toxoplasmosis is a very uncommon primary illness with clinical signs (5, 14). Dogs may be used to evaluate environmental pollution as an indicator for risk variables since they are exposed to the same infection risk as people and other animals (15-18). Numerous recombinant proteins from *T. gondii* have been produced and characterized for sensitivity and specificity in IgG ELISA, the most often used serological test (10). ELISA was created to detect different kinds of antibodies or antigens (19) and is commonly used to diagnose *T. gondii* infection. Due to its tremendous sensitivity and specificity, it is inexpensive, quick, and uncomplicated (17, 32). The study included 334 canines and was done by the Veterinary Branch Directorate of the Konya Metropolitan Municipality. This research aims to use an indirect ELISA test in Konya to identify the specific anti-*T.gondii* antibody. Gender, age, clinical symptoms, new and old entrances, water supply, shelter cat discovered, feed nature, and rodent (rat) distribution were all documented at the Shelter centre throughout the experiment. When ELISA was used to test recombinant TgSAG2, 33.8% of all seropositives were identified in this investigation. Other researchers have come to the same conclusion (16, 19, 20). Various variables may influence ELISA results, including the type of ELISA (direct, indirect, and

commercial ELISA), laboratory conditions, substrates, and other procedures. Males were infected at a rate of 40.3%, while females were infected at 30%; this study's high seropositivity implies considerable environmental contamination (16). *T. gondii* was detected by serology in stray or free-living dogs in China. ELISA revealed that 40.3% of 231 stray dogs, 38.7% of urban dogs, and 41% of rural dogs were infected, with no statistically significant difference between infections. While there was no statistically significant difference in frequency between the under-one-year age group (21.4%) and the 1-3 age group (34.3%), there was no significant difference in frequency within the under-one-year group (21.4%). The sample size was limited, and the seroprevalence of cases was 3/14 (21.4%) in 0-1-year-old animals, as indicated in this study. Future research should address these issues. These results agree with the studies conducted by Oncel et al. (33) and Kilic et al. (34).

The distinction explains how and when high-age animals may get infected throughout their lives. The findings were in accordance with those of (22) who used a commercial indirect-ELISA to determine the seroprevalence of *T. gondii* infection in 456 domestic dogs in Panama. There were 147 people who tested positive for IgG antibodies (32.23%). Consequently, there was a significant prevalence of canine toxoplasmosis in this area, which increased with age. The severity of symptoms is unrelated to the antibody titer. The detection of circulating *T. gondii* antigens may potentially help with toxoplasmosis diagnosis (5, 23). However, in this investigation, recombinant proteins were utilized as antigens to detect circulating antibodies. The majority of dogs have neuromuscular, respiratory, and gastrointestinal symptoms (5). The majority of clinical toxoplasmosis signs in older dogs are linked to cerebral indications of neosporosis. Despite the differences in these illnesses, the symptoms are comparable (1). In Brazil, a seven-year-old female dog was found with cutaneous ulcerated nodular lesions. Multiple bradyzoite cysts and tachyzoite panniculitis and dermatitis, were discovered during the biopsy (24). In an ELISA test, 22 (36%) of 61 canines with clinical symptoms were seropositive. Other symptoms mentioned included vomiting, diarrhoea, neurological system abnormalities, and weakness. The findings are similar to previous findings, which varied from 1.5 to 100% in various canines (1, 5, 15, 24-28). Previous research suggests that *T. gondii* infections have been fluctuating at different rates. Different habitats of dogs, differences in age and gender, strain, and diet, a close relationship with the final host (cat) or reservoir hosts (such as rodents) involved in the transport, the absence or presence of other infections during the examination, the immune systems of the animals, and differences in the tests used for diagnosis could all contribute to differences in infection rates. Other factors include sample size, ELISA type (direct

vs indirect), test location, and immune-suppressive illnesses, such as canine distemper virus.

Seropositive in ELISA were 22 (36%) out of 61 dogs showing clinical signs. Other clinical signs like vomiting, diarrhoea, nervous system disorders, and weakness were reported. The results are consistent with others (5, 15, 23-27).

Seropositivity was determined in 14 (31.8%) of 44 newly admitted dogs and 99 (34.1%) of 290 dogs with old entry. This result agrees with other results (13, 16, 18, 20, 24). Results from previous studies suggest that *T.gondii* infections have been varying at rate infections. Differences in infection rates may be caused by different habitats of dogs, differences in age, strain, and diet, close relationship with the final host or reservoir hosts involved in the transmission, co-infections, immunity, and tests used for diagnosis.

In conclusion, in Turkey, shelter dogs are more susceptible to infection from meat or water, while contaminated foods increase the risk of human toxoplasmosis. *T. gondii* is a zoonotically important protozoan parasite that can be transmitted in many different ways and should be paid attention especially by veterinarians. It is required to take various measures to reduce the danger of toxoplasmosis and to prevent *T. gondii* infections.

References

- Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis, and public health significance. *Zoonoses and Public Health* 2010; 57: 60-73. doi:10.1111/j.1863-2378.2009.01274.x.
- Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal of Parasitology* 2000; 30: 1217-1258. doi:10.1016/S0020-7519(00)00124-7.
- Lindsay DS, Dubey JP, Butler JM, Blagburn BL. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Vet Parasitol* 1997; 73 (1-2): 27-33. doi:10.1016/S0304-4017(97)00048-4.
- Dubey JP, Huong LT, Sundar N, Su C. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in dogs from Vietnam suggests their South American origin. *Veterinary Parasitology* 2007; 146: 347-351. doi:10.1016/j.vetpar.2007.03.008.
- Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. Fifth Edition. The United States. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc, 1988; pp.1-220.
- Akçay S, Pamukçu M, Baran S. Bir köpekte ilk toxoplazmose observasyonu. *Türk Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 1950; 20: 245-254. (article in Turkish with an English abstract).
- Lebrun M, Carruthers VB, Cesbron-Delauw MF. *Toxoplasma* secretory proteins and their roles in cell invasion and intracellular survival. Eds: Weiss LM, Kim K, 1st ed. In: *Toxoplasma gondii*: the model apicomplexan-perspectives and methods. United Kingdom: Academic Press, 2014; pp. 389-453.
- Lekutis C, Ferguson DJP, Grigg ME, Camps M, Boothroyd JC. Surface antigens of *Toxoplasma gondii*: variations on a theme. *International Journal of Parasitology* 2001; 31: 1285-1292. doi:10.1016/S0020-7519(01)00261-2.
- Cong H, Zhang M, Zhang Q, Gong J, Cong H, et al. Analysis of structures and epitopes of surface antigen glycoproteins expressed in bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. *BioMed Research International* 2013; 2013:1-9. doi:10.1155/2013/165342.
- Liyanage KLD, Wiethoelter A, Hufschmid J, Jabbar A. Descriptive Comparison of ELISAs for the Detection of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Animals: A Systematic Review. *Pathogens* 2021; 10: 605. doi:10.3390/pathogens10050605.
- Sudan V, Tewari AK, Singh H. Detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in Indian cattle by recombinant SAG2 enzyme-linked immunosorbent assay. *Acta Parasitologica* 2019; 64: 148-151. doi:10.2478/s11686-018-00016-6.
- Kotresha D, Rahmah N. Recombinant proteins in the diagnosis of toxoplasmosis. *APMIS* 2010; 118: 529-542. doi:10.1111/j.1600-0463.2010.02629.x.
- Zhou M, Cao S, Sevinc F, Sevinc M, Ceylan O, et al. Enzyme-linked immunosorbent assays using recombinant TgSAG2 and NcSAG1 to detect *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*-specific antibodies in domestic animals in Turkey. *J Vet Med Sci* 2016; 78: 1877-1881. doi:10.1292/jvms.16-0234.
- Dubey JP. *Toxoplasmosis in cats and dogs*. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings. May, 11-14, 2005; Mexico city- Mexico.
- Ali CN, Harris JA, Watkins JD, Adesiyun AA. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in dogs in Trinidad and Tobago. *Veterinary Parasitology* 2003; 113: 179-187. doi:10.1016/S0304-4017(03)00075-X.
- Yan C, Fu LL, Yue CL, Tang RX, Liu YS, et al. Stray dogs as indicators of *Toxoplasma gondii* distributed in the environment: the first report across an urban-rural gradient in China. *Parasites and Vectors* 2012; 5: 1-5. doi:10.1186/1756-3305-5-5.
- Jiang HH, Li MW, Xu MJ, Cong W, Zhu XQ. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs in Zhanjiang, Southern China. *Korean J Parasitol* 2015; 53 (4): 493-496. doi:10.3347/kjp.2015.53.4.493.
- Jiang W, Wang Y, Liu Y, Li T, Chen Y, et al. Seroepidemiological study of canine *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* infections in Shanghai, China, and analysis of risk factors. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2016; 23: 420-24. doi:10.5604/12321966.1219180.
- Liu Q, Wang ZD, Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites and Vectors* 2015; 8: 1-14. doi:10.1186/s13071-015-0902-6.
- Zarra-Nezhad F, Borujeni MP, Mosallanejad B, Hamidinejat H. A seroepidemiological survey of *Toxoplasma gondii* infection in referred dogs to Veterinary Hospital of Ahvaz, Iran. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 2017; 5: 148-151. doi:10.1016/j.ijvsm.2017.08.006.
- Rengifo-Herrera C, Pile E, García A, Pérez A, Pérez D, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic pets from metropolitan regions of Panama. *Parasite* 2017; 24:1-6. doi:10.1051/parasite/2017009.
- Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infection* 2002; 8: 634-640. doi:10.1046/j.1469-0691.2002.00485.x.
- Oliveira TS, Turchetti AP, Barbosa FB, Bicalho AL, Alencar CA, et al. Cutaneous toxoplasmosis in an immunosuppressed dog. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2014; 66: 797-800. doi:10.1590/1678-41626891.
- Aslan G, Altıntaş K. Toksoplazmose teşhisinde Sabin-Feldman testi ve ELISA IgM antikorlarının karşılaştırılması. *Genel Tıp Dergisi* 2000; 10: 161-164. (article in Turkish with an English abstract).

25. De Brito AF, Souza LC, Silva AV, Langoni H. Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97: 31-35. doi:10.1590/S0074-02762002000100003.
26. Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites and Vectors* 2010; 3: 1-11. doi:10.1186/1756-3305-3-26.
27. Langoni H, Matteucci G, Medici B, Camossi LG, Richini-Pereira VB, et al. Detection and molecular analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from dogs with neurological disorders. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2012; 45: 365-368. doi:10.1590/S0037-86822012000300016.
28. Koc S, Aydın L, Cetin H. Tick species (Acari: Ixodida) in Antalya City, Turkey: species diversity and seasonal activity. *Parasitology Research* 2015; 114: 2581-2586. doi:10.1007/s00436-015-4462-7.
29. Frenkel JK, Lindsay DS, Parker BB, Dobesh M. Dogs as possible mechanical carriers of *Toxoplasma*, and their fur is a source of infection in young children. *International Journal of Infectious Diseases* 2003; 7: 292-300. doi:10.1016/s1201-9712(03)90112-3.
30. Yang N, Mu M, Li H, Hu J, Gao W, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in pet dogs in Shenyang, northeastern China. *Journal of Parasitology* 2013; 99: 176-177. doi:10.1645/GE-3211.1.
31. Zhuo X, Sun H, Zhang Z, Luo J, Shan Y, et al. Development and application of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant MAG1 for serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* in dogs. *Journal of Parasitology* 2017; 103: 237-242. doi:10.1645/16-89.
32. Calero-Bernal R, Gennari SM. Clinical toxoplasmosis in dogs and cats: an update. *Frontiers in Veterinary Science* 2019; 6:1-9. doi:10.3389/fvets.2019.00054.
33. Oncel T, Handemir E, Kamburgil K, Yurtalan S. Determination of seropositivity for *Toxoplasma gondii* in stray dogs in Istanbul, Turkey. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2007; 158: 223-228.
34. Kilic S, Babür C, Özkan AT, Mamak N. Investigation of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Leishmania infantum* antibodies among Sivas Kangal Dogs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2008; 32: 299-304. (article in Turkish with an English abstract).



Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis by Sabin Feldman Dye Test in Konya Province, Turkey*

Firas ALALI¹, Ferda SEVİNÇ², Cahit BABÜR³, Onur CEYLAN²

¹University of Kerkala, College of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Parasitology, Kerkala/IRAQ

²Selcuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Parasitology, Konya/TURKEY

³General Directorate of Public Health, Microbiology Reference Laboratories and Biological Products Department of National Reference Laboratory of Parasitology, Ankara/TURKEY

◆ Geliş Tarihi/Received: 20.11.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 13.12.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Alali F, Sevinç F, Babür C, Ceylan O. Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis by Sabin Feldman Dye Test in Konya Province, Turkey. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):29-33.

Abstract: *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) is a protozoan parasite that lives within cells and is the cause of toxoplasmosis in dogs and all animals. The purpose of this research was to determine the seroprevalence of *T. gondii* infection in stray dogs in the Konya province of Turkey. Between July 2017 and July 2018, 334 plasma samples were taken from dogs of both genders, aged 0-1 and 1-3 years. The samples were tested for *T. gondii*-specific antibodies using the Sabin-Feldman Dye Test (SFDT). *T. gondii* seroprevalence was 98.5%, with infection rates of 99.2% in males and 98.1% in females, respectively. Positive cases were 14 (100%) in 0-1 year-old animals and 315 (98.4%) in the 1-3 year age group, with no significant difference between the age groups ($P>0.05$). Gender differences were not statistically significant ($P>0.05$). Seropositivity was detected in 98.3% (60/61) of the animals having clinical symptoms. The number of seropositive cases in new and old entrance dogs was 329 (98.5%), 42/44 (95.4%) in new entry dogs and 287/290 (99%) in old entry dogs. There was no significant difference in the elderly entry dogs ($P>0.05$). In the current investigation, 61 animals were examined for clinical signs, such as paralysis and atrophy of the hind-limbs, nasal discharge, skin lesions, tick infestations, vomiting, diarrhea, nervous system problems, and emaciation.

Keywords: Dog, Toxoplasmosis, Clinical signs, Turkey

Türkiye'nin Konya İli Köpeklerinde Sabin Feldman Boya Testi ile Toxoplasmosis Seroprevalansı

Özet: *Toxoplasma gondii*, köpeklerde ve tüm memelilerde toksoplazmozise neden olan hücre içi bir protozoon parazittir. Bu çalışmada Konya ilinde sokak köpeklerinde *T. gondii* enfeksiyonunun seroprevalansı araştırıldı. Temmuz 2017-Temmuz 2018 döneminde (0-1> yıl ve 1-3> yıl) her iki cinsiyetteki köpeklerden toplam 334 plazma örneği toplandı. Plazma örneklerinde Sabin-Feldman Boya testi ile *T. gondii*'ye spesifik antikorların varlığı araştırıldı. *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı %98,5 bulunurken, bu değer erkek ve dişi köpeklerde sırasıyla %99,2 ve %98,1 olduğu belirlendi. Pozitif vakalar 0-1 yaş hayvanların 14'ünde (%100), 1-3 yaş grubu hayvanların ise 315'inde (%98,4) tespit edildi ve yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmedi ($P>0.05$). Cinsiyete göre seroprevalans değerleri arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($P>0.05$). Klinik belirtileri olan hayvanların %98,3'ü (60/61) seropozitif bulundu. Yeni ve eski girişli köpeklerde seropozitif hayvan sayısı 329 (%98,5) [yeni girişli hayvanlarda pozitif sayısı 42/44 (%95,4) ve eski girişli hayvanlarda 287/290 (%99)] olarak tespit edildi. Eski girişli köpeklerde seropozitiflik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($P>0.05$). Çalışmadaki 61 hayvanda arka bacaklarda felç ve atrofi, burun akıntısı, deri lezyonları, kene istilası, kusma, ishal, sinir sistemi bozuklukları ve zayıflama gibi klinik belirtiler tespit edildi.

Ahtar Kelimeler: Köpek, Toxoplasmosis, Klinik bulgular, Türkiye

1. Introduction

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) is an obligate intracellular protozoan parasite that can infect all warm-blooded vertebrates, including mammals, which may cause fatal diseases such as abortion (1, 2). Toxoplasmosis is a highly contagious illness that affects up to 90% of all animal species (3). The primary route of transmission from animals to humans is via the consumption of meat harboring tissue cysts and oocyst-contaminated water (4). In 1910, Mello

reported the first case of acute visceral toxoplasmosis in a four-month-old dog in Turin, Italy.

The parasite was discovered after histological investigation of tissues harvested from the dog's ulcerated liver, lung, spleen, and intestine (5). Numerous studies have also shown that the prevalence of *T. gondii* infection in dogs ranges between 0% and 100% in various countries, and toxoplasmosis is widespread globally (5, 6). In Turkey, toxoplasmosis was reported in a dog for the first time in

✉: firas.o@uokerbala.edu.iq

*This research was a part of PhD thesis of the Firas ALALI and this study was presented as an oral at the International Congress on Biological and Health Sciences Congress (26-28 February 2021/Afyonkarahisar).

1950 (7). *Toxoplasma gondii* infections are extensively dispersed in people and animals in Turkey (8)

Clinical signs of canine toxoplasmosis include neuromuscular, respiratory, and gastrointestinal system issues. The majorities of infected dogs are asymptomatic and have additional illnesses, such as distemper and ehrlichiosis (9). This kind of infection may cause progressive brain and spinal cord damage. Peripheral neuromuscular dysfunction, atrophy of extensor muscles, and paralysis are all symptoms of this condition (10). The pulmonary form of the disease may kill dogs within a week, but the gastrointestinal form of the disease is often characterized by vomiting and diarrhea in dogs (6). Jaundice, abdominal effusion, fever, lethargy, vomiting and diarrhea may also be present in dogs with encephalopathy. Toxoplasmosis-related liver damage in young dogs is common, especially in those who have been infected with distemper. Toxoplasmosis may be passed from mother to puppy through the placenta or via the milk of the nursing mother (11).

Puppies may die from canine toxoplasmosis. High fever, tonsillitis, shortness of breath, vomiting, diarrhea, jaundice, and cardiac damage are all symptoms of infection. Ataxia, paresis, posterior limb paralysis, and hind limb paralysis are some of the other neurological signs (12). Neurological toxoplasmosis and neurological neosporosis have comparable clinical symptoms (13).

Among the serological diagnostic methods, SFDT is one of the most commonly applied methods. SFDT is one of the most frequently used serological diagnostic procedures. The SFDT seems to be the gold standard for identifying anti-*T. gondii* specific antibodies. (14,15). This study was carried out to detect *T. gondii* infections using the SFDT in stray dogs in dog shelters affiliated to Konya Metropolitan Municipality, Veterinary Department.

2. Materials and Methods

2.1. Study area

In July 2017, blood samples were obtained from all canines in Konya Metropolitan Municipality/Selcuklu region/Konya. Clinical evaluations of all canines of various genders residing in the animal shelter have been reported. All procedures were carried out in accordance with the ethical guidelines of the Experimental Animals Production and Research Center Ethics Committee of Veterinary Faculty of Selcuk University (Decision number: SUVDAMEK-2017/46).

2.2. Sample collection

Among 334 animals divided in male (124) and female (210) with different number, ages group 0-1 was (14), 1-3 group was (320), while number of clinical signs was (61) harbor

two groups, new was (44) and old entry dogs was (290). Briefly, approximately 5 ml of blood was drawn from the ramus dorsal of *Vena cephalica* or *Vena saphanea parva* and placed in anticoagulant tubes. Blood was centrifuged for 15 min at 2500 rpm; plasma was collected and kept at -20°C until testing. Plasma samples were examined by SFDT for the presence of particular *T. gondii* antibodies at the Public Health Agency's *Toxoplasma* Laboratory in Ankara, Turkey's capital city.

2.3. Sabin-Feldman dye test

SFDT was performed using plasma samples of live tachyzoites and methylene-blue dye. Positive and negative controls, as well as test sera, were serially diluted fourfold with saline (1/16; 1/64; 1/256; and 1/1024). Twenty five of each dilution was transferred to a tube, and an equivalent amount of activator sera was added. The activator sera are seronegative for *T. gondii* and are high in C2, C3, C4, Mg2, and properdin. A 48-hour passage of the *T. gondii* Rh strain was obtained from the peritoneal fluid of 3-4 week old Swiss albino mice. The tubes were then incubated at 37°C for 50 min. After that, 25 µl of alkaline methylene blue (pH 11) was incubated for 10 minutes at 37°C. Following incubation, a total of 20 µl of each sample was analyzed with a 40 objective. Positive dilutions were those in which at least half of the *T. gondii* tachyzoites remained unstained. A positive antibody titer of 1:16 or greater was considered (16).

2.4. Statistical analyses

The chi-square test was used to evaluate whether there was a correlation between infection and age, gender, clinical symptoms, and new and old entrance dogs. When the probability(P) value was less than 0.05, the differences were considered statistically significant. SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) statistical program was used to analyze all data. origin or publisher of SPSS Inc. in Chicago USA.

3. Results

The SFDT demonstrated that 98.5% of the 334 dogs evaluated were positive for anti-*T. gondii* antibodies, as shown in Table 1. A total of 99.2% (123/124) of males and 98.1% (206/210) of females were found to be positive in this investigation. The dye test was performed at 1/16, 1/64, 1/256, and 1/1024 dilutions. Seropositivity was recorded in animals, 168 (61 males, 107 females) at 1/16 dilution, 115 (43 males, 72 females) at dilution 1/64, 35 (16 male and 19 female) at 1/256 dilution, and 11 (3 males, 8 females) at 1/1024 dilutions. Table 2 shows the infection status of dogs by age. In the 0-1 age group, the SFDT indicated seropositivity in all 14/14 (100%) canines. Seven dogs were infected at a 1/16 dilution, six at a 1/64 dilution, and one at a 1/1024 dilution. In the 1-3 age group, 315 (98.4%) of 320

canines were seropositive. At dilutions of 1/16, 1/64, 1/256, and 1/1024, the number of infected dogs was 161, 109, 35,

and 10 dogs, respectively.

Table 1: Distribution of infection according to genders

Gender	1/16	1/64	1/256	1/1024	n/N	%	P
Male	61	43	16	3	123/124	99.2	
Female	107	72	19	8	206/210	98.1	
Total	168	115	35	11	329/334	98.5	P>0.05

N: Total samples, **n:** Positive samples

Various clinical signs are shown in the animals investigated, including hind limb paralysis and atrophy, runny nose, skin lesions, tick infestations, vomiting, diarrhea, nervous system

problems, and weakness. Table 3 demonstrates that 60 (98.3%) of the 61 animals exhibiting clinical signs tested positive for antibodies.

Table 2: Distribution of infection according to ages

Ages	1/16	1/64	1/256	1/1024	n/N	%	P
0-1	7	6	0	1	14/14	100	
1-3	161	109	35	10	315/320	98.4	
Total	168	115	35	11	329/334	98.5	P>0.05

N: Total samples, **n:** Positive samples

The proportion of infected animals with clinical signs, such as hind-limb paralysis and atrophy, skin lesions, tick infestation, hind-limb paralysis, atrophy, and skin lesions reached 100%. The percentage of animals having nasal secretions was 96.8%. At a 1/16 dilution, 15 positive animals had nasal discharge, 10 positive animals had skin lesions, 4 positive animals had tick infestations, 1 positive animal had hind-limb paralysis and atrophy, and 1 positive

animal had hind-limb paralysis, atrophy, and skin lesions. The second dilution was observed in 22 animals at 1/64, and nasal discharge in 13 dogs, skin lesions in five dogs, and tick infestations in four dogs were observed. At 1/256 dilution, three dogs were tested positive, two with nasal discharge and one with skin lesions. Four dogs were detected at a dilution of 1/1024, one with nasal discharges, two with skin lesions, and one with tick infestations.

Table 3: The relationship of the infection with clinical symptoms

Clinical symptoms	1/16	1/64	1/256	1/1024	n/N	%	P
A	1	0	0	0	1/1	100	
B	15	13	2	1	31/32	96.8	
C	10	5	1	2	18/18	100	
D	4	4	0	1	9/9	100	
E	1	0	0	0	1/1	100	
Total	31	22	3	4	60/61	98.3	P>0.05

N: Total samples, **n:** Positive samples, **A:** Hindlimbs paralysis and atrophy; **B:** Nasal discharges;

C: Skin lesions; **D:** Tick infestations; **E:** Hindlimbs paralysis and atrophy and skin lesions

Seropositivity is revealed in Table 4 for new and old entrance dogs. Seropositivity in the new entry dogs was 95.4%, while it was 99% in the old entry dogs. From 44 animals at plasma dilutions of the most recent entries, there

were 27 in 1/16, 12 in 1/64, 3 in 1/256, and 141, 103, 32, and 11 animals at 1/16, 1/64, 1/256, and 1/1024, respectively, from the 290 dogs that had previously been to the shelter.

Table 4: The relationship of the infection with new and old entry dogs

Clinical symptoms	1/16	1/64	1/256	1/1024	n/N	%	P
New entries	27	12	3	0	42/44	95.4	
Old entries	141	103	32	11	287/290	99	
Total	168	115	35	11	329/334	98.5	P>0.05

N: Total samples, **n:** Positive samples

4. Discussion and Conclusion

Toxoplasma gondii is a protozoan parasite that may be found in all regions of the globe and has a variety of hosts and infective stages (2). Canine toxoplasmosis has been reported in dogs under the age of one year and uncommon primary illness with clinical signs (5, 11). Dogs may be used to evaluate environmental pollution as an indicator for risk variables since they are exposed to the same infection risk as people and other animals (27). The serologic status as alternative assay for *T. gondii* in free-living animals, such as stray or free-living dogs, as an indicator, can be used to evaluate environmental contamination indirectly, as they are exposed to the same risk of infection as humans and other animals (27).

The SFDT was used to examine plasma dogs in order to investigate specific anti-*T. gondii* antibodies. The study included 334 canines and was done by the Veterinary Branch Directorate of the Konya Metropolitan Municipality. Throughout the experiment, the distribution of the infection was shown based on a number of parameters (genders, age, presence of clinical signs, new and old entries dogs) were all documented at the Shelter centre. Seropositivity was mostly found at 1/16 titer. Most results in the world meet the definition of positivity with a titer of 1/16. Dye testing is extremely specific, and its use as a reference method in all labs should be encouraged (14).

The SFDT was found to be positive in 98.5% of the dogs. This result was found to be consistent with the previous investigations findings (16-20). These findings may be attributed to increased impacts on environmental contamination in this location. Various variables, such as antibody type, sample size, and dog category, may influence SFDT results (stray, outdoor, indoor, and domesticated). Altay et al. (20) found it in 120 canine sera from Sivas province, 60 of which were stray dogs. Antibodies were found in 115 (95.8%) of the 120 serum samples. *T. gondii* seroprevalence in male dogs was 95.6%, in female dogs it was 96.2%, in the 0-2 age group it was 93.9%, in the 3-5 age group it was 95.4%, and in the over 6 age group it was 100% (20). Dogan et al. (21) discovered canine toxoplasmosis in 185 street dogs in Eskisehir Province. SFDT detected *T. gondii* seropositivity in 107 of 185 dogs (1/16 and up); no statistically significant differences were found in sex, age groups, or dog strains.

According to (Table 1), males had a 99.2% prevalence rate, while females had a 98.1% prevalence rate. There was no statistically significant difference in infection rates between males and females. It was found to be consistent with previous findings (20, 21). These explain both of genders expose to agent at the same time. The infection rate was 100% in the 0-1 age group and 98.4 % in the 1-3 age group. The findings were also noticed to be consistent with

previous investigations (20, 21), (Table.2). Additionally, this location had a high rate of canine toxoplasmosis, which increased with age. The antibody titer has no impact on the severity of symptoms (6, 23).

Clinical signs of respiratory, neuromuscular, and gastrointestinal disease can be seen in the majority of dogs (6). Cerebral neosporosis is connected to the majority of toxoplasmosis symptoms in older dogs. Despite the distinctions in these diseases, the symptoms are similar (5).

In Brazil a seven-year-old female spayed Schnauzer was presented with cutaneous ulcerated nodular lesions. Biopsy showed intralesional bradyzoites cysts and tachyzoites. PCR analysis was positive for *T. gondii* (23).

In the current study, paralysis and atrophy of the hind legs, skin lesions, tick infestation, runny nose, vomiting, diarrhea, and nervous system abnormalities were recorded in 60 (98.3%) of the 61 dogs. Seropositivity was 100% in diseased animals with hind-limb paralysis and atrophy, skin lesions, and tick infestation, and 96.8% in dogs with nasal discharge. This outcome corroborated previous findings (6, 22, 23) (Table 3). In this study, the presence of a shared water source, stray cats, birds, and rodents (rats) living near stray dogs was thought to be the main reason for the risk of infection.

T. gondii is common in urban and peri-urban areas, implying that the risk factors identified for dogs were being a mixed-breed animal and living entirely outside, indicating that dogs and cats should be considered a potential risk factor for human populations (24).

The infection was found in 95.4% of newly entered dogs (42/44) and 99% of old entry dogs (287/290). This result is in line with previous investigations' findings (25, 26) (Table 4). In different studies, the rates of *T. gondii* infection have been found to vary. Dog habitats, age, and nutrition changes, close contact with the end host or reservoir hosts involved in the transfer, the absence or presence of other illnesses, immune system status, and diagnostic testing discrepancies are all factors that contribute to this condition.

In conclusion, the prevalence of canine toxoplasmosis was shown to be high. The prevalence of *T. gondii* in food, soil, and water is usually unknown, and further research is needed. Furthermore, stray dogs in Turkey are more vulnerable to infection from a variety of sources, including meat and water, and contaminated foods may pose a public health risk. Oocysts ingested via food, soil, or water is the primary risk factors. Therefore, various measures should be taken in this area to reduce the risk of toxoplasmosis.

Acknowledgement

This research was a part of PhD thesis of the Firas ALALI/Konya-2019, under the project number/17102030,

supported by Selcuk University Scientific Research Projects Coordination (BAP) and Iraqi Ministry of Higher Education and Scientific Research (MOHESR).

References

- Ergene O, Celebi B, Kucukaslan I. Seroprevalance of canine brucellosis and toxoplasmosis in female and male dogs and relationship to various factors as parity, abortion and pyometra. *Indian Journal of Animal Research*. 2019; 53:954-958. doi : 10.18805/ijar.B-707.
- Dubey JP, Murata FH, Cerqueira-Cézar CK, Kwok OC, Su C. Epidemiologic significance of *Toxoplasma gondii* infections in turkeys, ducks, ratites and other wild birds: 2009–2020. *Parasitology*. 2021;148: 1-30. doi:10.1017/S0031182020001961.
- Acioz M, Bozkaya F, Babür C. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies using Sabin-Feldman dye test among equines in Isparta province, Turkey. *Parasitologists United Journal* 2021;14:146-150. doi: 10.21608/PUJ.2021.69445.1112 .
- Halonen SK, Weiss LM. Toxoplasmosis. Garcia HH, Tanowitz HB, Del brutto OH. In: *Neuroparasitology and Tropical Neurology*. British library. Radarweg, Netherland. *Handb Clin Neurol* 2013; 114: 125–145.
- Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (Gallus domesticus): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses and Public Health* 2010; 57: 60-73. doi:10.1111/j.1863-2378.2009.01274.x.
- Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. United states: Boca Raton: CRC Press Inc. 1988; p.1-220.
- Akçay S, Pamukçu M, Baran S. Bir köpekte ilk toxoplasmose observasyonu. *Vet Hek Der Derg* 1950;20: 245-254.
- Kolören Z, Dubey JP. A review of toxoplasmosis in humans and animals in Turkey. *Parasitology*. 2020 Jan;147:12-28. doi:10.1017/S0031182019001318.
- Pimenta AL, Piza ET, Cardoso RB, Dubey JP. Visceral toxoplasmosis in dogs from Brazil. *Veterinary Parasitology* 1993;45:323-326. doi:10.1016/0304-4017(93)90086-3.
- Silva NM, Lourenco EV, Silva DA, Mineo JR. Optimisation of cut-off titres in *Toxoplasma gondii* specific ELISA and IFAT in dog sera using immunoreactivity to SAG-1 antigen as a molecular marker of infection. *Veterinary Journal* 2002; 163:94-98. doi: 10.1053/tvj.2001.0629.
- Dubey JP. Toxoplasmosis in cats and dogs. *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*. May, 1-14 ,2005; Mexico City, Mexico.
- Dubey JP, Lindsay DS, Lappin MR. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. *Veterinary Clinics Small Animal Practice* 2009; 39: 1009-1034. doi: 10.1016/j.cvsm.2009.08.001.
- Babur C, Erdal N, Biyikoglu G, Piskin FC. Seroprevalence of toxoplasmosis on stray dogs in İstanbul. *Acta Parasitologica Turcica* 1997; 21: 413-416.
- Reiter-Owona I, Petersen E, Joynson D, Aspöck H, Darde ML, et al. The past and present role of the Sabin-Feldman dye test in the serodiagnosis of toxoplasmosis. *Bulletin of the World Health Organization* 1999; 77: 929-935.
- Kotresha D, Noordin R. Recombinant proteins in the diagnosis of toxoplasmosis. *Apmis* 2010;118:529-542. doi:10.1111/j.1600-0463.2010.02629.x.
- Babür C, Altaş MG, Çelebi B, Sevgili M, Taylan Özkan A, et al. Seroprevalance of Toxoplasmosis, Leishmaniosis and Listeriosis in stray dogs in the province of Sanliurfa, Turkey. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology* 2007; 64:11-16.
- Kilic S, Babür C, Özkan AT, Mamak N. Investigation of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-Leishmania infantum antibodies among Sivas Kangal Dogs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2008; 32: 299-304.
- Gicik Y, Sari B, Babür C, Celebi B. The seropositivity of *Toxoplasma gondii* and *Listeria monocytogenes* in the dogs of Kars and vicinity. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2010 ;34:86-90.
- İçen H, Babür C, Bademkiran S, Celebi B, Simşek A, et al. Seroprevalance of toxoplasmosis, leishmaiosis and listeriosis in shelter dogs of Diyarbakir, Turkey. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2010;34:6-10.
- Altay K, Babür C, Ataş DA, Beyhan YE, Özkan E. Investigation of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs in the Province of Sivas. *Journal of Etlik Veterinary Microbiology* 2013; 24:13-16.
- Doğan N, Özkan AT, Babür C, Köse C. Seroprevalance of leishmaniosis and toxoplasmosis in healthy appeared street dogs in Eskisehir. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology* 2014; 71: 27-34. Doi:10.5505/TurkHijyen.2014.56833.
- Langoni H, Matteucci G, Medici B, Camossi LG, Richini-Pereira VB, et al. Detection and molecular analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from dogs with neurological disorders. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2012; 45:365-368. doi:10.1590/S0037-86822012000300016.
- Oliveira TS, Turchetti AP, Barbosa FB, Bicalho AL, Alencar CA, et al. Cutaneous toxoplasmosis in an immunosuppressed dog. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2014; 66: 797-800. doi:10.1590/1678-41626891.
- Huertas-López A, Sukhumavasi W, Álvarez-García G, Martínez-Subiela S, Cano-Terriza D, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in outdoor dogs and cats in Bangkok, Thailand. *Parasitology* 2021;148:843-849. doi:10.1017/S0031182021000421.
- Aslan G, Altıntaş K. Toksoplazmosis teşhisinde Sabin-Feldman testi ve ELISA IgM antikorlarının karşılaştırılması. *Genel Tıp Dergisi* 2000;10:161-164.
- Zarra-Nezhad F, Borujeni MP, Mosallanejad B, Hamidinejat H. A seroepidemiological survey of *Toxoplasma gondii* infection in referred dogs to Veterinary Hospital of Ahvaz, Iran. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 2017; 5: 148-151. doi:10.1016/j.ijvsm.2017.08.006 .
- Yan C, Fu LL, Yue CL, Tang RX, Liu YS, et al. Stray dogs as indicators of *Toxoplasma gondii* distributed in the environment: the first report across an urban-rural gradient in China. *Parasites and Vectors* 2012; 5: 1-5. doi:10.1186/1756-3305-5-5.



Kedilerin Atopik Sendromuna Güncel Yaklaşım

Güneç GÖKALP¹, Akın KIRBAŞ¹

¹ Yozgat Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Yozgat/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 01.06.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 21.06.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Gökalp G, KırbaşA. Kedilerin Atopik Sendromuna Güncel Yaklaşım. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):34-40.

Özet: Kedilerin atopik sendromu, kedilerin solunum veya temas yoluyla maruz kalabildiği ve çevresel alerjenlerden kaynaklı aşırı duyarlılığın tetiklenmesi ile ortaya çıkan bir tablodur. Köpeklerde görülen atopik dermatitise benzer özellikler taşıyan atopik sendromun, genetik yatkınlığa sahip, genellikle 5 yaş altındaki kedilerde rastlanabilen inflamatuvar, kaşıntılı, immunglobulin E ve çevresel alerjenlere karşı oluşturulan antikorlarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Siyam, Persiyan ve Himalayan gibi kedi ırkları kedi atopik sendromuna yatkınlık göstermektedir. Kedi atopik sendromu klinik açıdan milier dermatitis, eozinofilik granülom, iltihaplı olmayan alopesi veya ülseratif ve kabuklu dermatitis ile benzerlik göstermektedir. Bu sendromun kutanöz olmayan klinik bulguları arasında sinüzit, kedi astımı ve konjunktivitis bulunmaktadır. İntradermal alerji ve IgE ELISA testleri atopik sendromun tanısında kullanılmaktadır. Kedi atopik sendromun tanısında gıda alerjisi veya pire ısırığı aşırı duyarlılığı gibi nedenlerin elimine edilmesi önemlidir. Bunun yanı sıra tanıda biyofiziksel parametrelerden olan transepidermal su kaybı yaygın olarak kullanılmaktadır. Nedenin ortadan kaldırılması, hipoalerjenik diyet, glukokortikoid, siklosporin, oklakitinib, bronkodilatör, antimikrobiyal ve antihistaminik uygulamaları tedavi seçenekleri arasındadır. Son zamanlarda atopik karakterli dermatitlerde alerjik solunum ve kutanöz hastalıklarının klinik belirtilerinin kontrol altına alınmasında alerjene özgü immünoterapinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Hastalıkta kullanılan tedavi seçeneklerinin bireysel farklılıklara göre değerlendirilmesi unutulmaması gereken bir noktadır. Bu derleme makalesi alerjik dermatite sahip kedilerde yaygınlaşmaya başlayan kedi atopik sendromun önemine vurgu yapmayı amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alerjen, Atopi, IgE, Immunoterapi, Kedi

Current Approach To Feline Atopic Syndrome

Abstract: Feline atopic syndrome is a condition in which cats can be exposed through breathing or contact, triggering hypersensitivity from environmental allergens. Atopic syndrome, which has characteristics similar to atopic dermatitis seen in dogs, is known to be associated with antibodies created against inflammatory, itchy, immunoglobulin E and environmental allergens that are usually found in cats under 5 years of age with a genetic predisposition. Breeds such as Siamese, Persian and Himalayan are predisposed to feline atopic syndrome. Feline atopic syndrome is clinically similar to milier dermatitis, eosinophilic granuloma, non-inflammatory alopecia, or ulcerative and crustacean dermatitis. Non-cutaneous clinical manifestations of this syndrome include sinusitis, feline asthma, and conjunctivitis. Intradermal Allergy and Ige ELISA tests are used to diagnose atopic syndrome. In the diagnosis of Feline atopic syndrome, it is important to eliminate causes such as food allergy or flea bite hypersensitivity. In addition, transepidermal water loss, which is one of the biophysical parameters, is widely used in diagnosis. Elimination of the cause, hypoallergenic diet, glucocorticoid, cyclosporine, oclakitinib, bronchodilator, antimicrobial and antihistamine applications are among the treatment options. Recently, the use of allergen-specific immunotherapy in controlling the clinical signs of allergic respiration and cutaneous diseases in atopic dermatitis has become widespread. Evaluation of the treatment options used in the disease according to individual differences is a point that should not be forgotten. This review article aims to emphasize the importance of feline atopic syndrome, which is becoming common in cats with allergic dermatitis.

Keywords: Allergen, Atopy, IgE, Immunotherapy, Cat

1.Giriş

Aşırı duyarlılık dermatitleri, pire ısırığı aşırı duyarlılık dermatiti, kutanöz gıda reaksiyonları, ürtiker, anjiyoödem ve atopik dermatit gibi çok çeşitli alerjik hastalıkları tanımlamak için kullanılan bir terimdir (1). Kedi atopik sendromu terimi ise tekrarlayan, kaşıntılı, intradermal testlerde çeşitli çevresel alerjenlere pozitif reaksiyon gösteren, enfeksiyon ve parazitler gibi diğer kaşıntı nedenlerini dışlayan bir hastalığı tanımlamak için kullanılmaktadır (2). Önceki araştırmalar kedilerdeki alerjik hastalıkların astım, çevresel alerjenlere bağlı dermatitler ve

gıda alerjisinden kaynaklandığını göstermektedir (3). Kedi atopik dermatitlerinde gıda intoleransı ve pire ısırığı aşırı duyarlılığı görülebilmektedir. Aşırı duyarlılık gösteren kedilerde pire önleyici uygulamalardan sonra klinik belirtilerin gerilemesinin atopik dermatitlerde tanısız öneme sahip olduğu bilinmektedir (4). Kedi atopisi kedi atopik sendromunda olduğu gibi pire ve gıda kaynaklı olmayan alerjik dermatitleri içermektedir (5). Kedi atopisi, pire alerjisi dermatitinden sonra kedilerde en sık görülen ikinci alerjik dermatit olarak kabul edilmektedir. Kedi atopisi, kedi atopik sendromuna nazaran alerjene özgü IgE ölçümlerinde daha düşük değerler göstermektedir (6). Ayrıca, kedi

atopisinde kedide meydana gelebilen alerji atopik sendromda olduğu gibi çevresel nedenlerden, kutanöz gıda reaksiyonlarından ve pire ısırığı aşırı duyarlılığından kaynaklanmamaktadır. Kedi atopik sendromunda görülebilen astım belirtilerine ise kedi atopisinde rastlanılmamaktadır (4). Bu sendrom çevresel alerjenlere karşı aşırı immünolojik reaksiyonların olduğu ve bütün kedi dermatolojik vakalarının %12-32'sini etkilediği yaygın bir deri hastalığı olarak tanımlanmaktadır (7). Bununla birlikte, büyük bir kedi popülasyonunun değerlendirildiği bir retrospektif çalışmada alerjik dermatitlere tüm kedi dermatozlarının %32,7'sinde rastlandığı ve bu oranın %10,3'ünde ise atopik dermatitlerin görüldüğü bildirilmektedir (1). Son zamanlarda yapılan çalışmalar bazı deri ve gastrointestinal sistem hastalıkları ile solunum yolundaki alerjik hastalıkların çevresel alerjilerle ilişki kedi atopik sendromundan kaynaklandığını bildirmektedir (8). Çevresel, gıda veya pire aşırı duyarlılıklarına bağlı olabilen bu alerjik dermatitlere sıklıkla rastlanılmaktadır. Pire kontrolüne ve gıda denemelerinin ortadan kaldırılmasına yanıt vermeyen alerjik dermatit vakaları ise yaygınlaşmaktadır (9). Pire veya böcek ısırığı aşırı duyarlılığı ile olumsuz gıda reaksiyonlarının dışında sadece çevresel alerjiden etkilenebilen bu sendrom aynı zamanda pire enfestasyonsuz ve gıda bağımsız hipersensitivite dermatiti olarak da adlandırılmaktadır (10, 11). İnsanlarda ve köpeklerde kedi atopisi ile atopik dermatit arasındaki benzerliklerin gün geçtikçe arttığı bilinmektedir. Köpeklerde atopik dermatitte olduğu gibi kedi atopisinde çevresel alerjenlere karşı aşırı IgE yanıtının yanında immunoglobulin G (Ig) yanıtının da görülebildiği bilinmektedir (6). Yapılan araştırmalar sonucu elde edilen verilere göre köpeklerdeki atopik dermatitlerinin prevalansı %3-15 arasında iken kedi atopik sendromunda bu oranın yaklaşık olarak %12,5 olduğu bildirilmektedir (12).

2. Etiyoloji

Alerjik deri hastalıklarını tetikleyen faktörler pire; gıda veya çevresel kaynaklı olarak üçe ayrılmaktadır. Genetik yatkınlık ve IgE gibi çoğu zaman alerjene özgü oluşabilen dermatolojik reaksiyonlar atopik sendromun başlıca nedenleri arasında sayılmaktadır (13). Alerjik dermatitlerin etiyojisinde pire ve böcek ısırığı aşırı duyarlılığı ve olumsuz gıda reaksiyonları fark edilirken, atopik sendrom söz konusu olduğunda ilk iki nedenin dışında kalan çevresel alerjenlerden şüphelenilmektedir (10). Klinik olarak gerçek bir immünolojik reaksiyon (aşırı duyarlılık) ile immünolojik olmayan bir reaksiyonu (intolerans) ayırt edemediğimiz için, Veteriner hekimlikte kutanöz olumsuz gıda reaksiyonları terimi kullanılmaktadır. Bu terim alerjik dermatitlerdeki gıda aşırı duyarlılığı ve gıda intoleransını içermektedir (4). Kedi Atopik Sendromunun çevresel alerjenlerle ilişkili deri hastalıklarının atopisi olarak sonuçlanabileceği, aşırı duyarlılığın ve astımın ise alerjik deri hastalıklarından ileri

gelebileceği bilinmektedir (3). Epidermis tabakasında veya deri lipid bileşiminde meydana gelen yapısal değişiklikler deride iltihaplanmaya yol açan deri bariyer işlev bozukluklarına neden olabilmektedir. Kusurlu epidermal bariyer, lokal antijenik özellikteki alerjenler ve immün efektör hücreleri çevresel alerjenlerin derideki penetrasyonunu kolaylaştırmaktadır (14). Alerjik dermatitli kedilerin derisinde CD4+T lenfositlerinin sayısında önemli bir artışın tespit edilmesinden dolayı T lenfositlerinin kedi atopik sendromunun immünopatogenezinde önemli rol oynadığına inanılmaktadır (2). Enflamatuar sitokinlerin varlığından dolayı alerjik dermatitlerde kaşıntıyı tetikleyen nörokinin olarak bilinen p maddesine lezyonlu derilerde lezyonsuz derilere nazaran daha az rastlanılmaktadır (15). Köpek atopik dermatitine benzer şekilde kedi atopisinde ev tozu akarları gibi çevresel alerjenler ile oluşabilen IgE reaksiyonu görülebilmektedir (5). Bununla birlikte, kedi atopisi, çevresel alerjenlere özgü deride yer edinebilen ve dolaşımdaki IgE antikorlarının varlığıyla ilişkili kaşıntılı deri hastalığını meydana getirebilen tip 1 aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak da tanımlanmaktadır (6). Korneosit hücrelerine bakteriyel invazyonun gerçekleşmesi sonucu oluşabilen pyoderma alerjik dermatitli köpeklerde ve insanlarda yaygın olabilmesine karşın bu durum atopik sendromlu kedilerde nadir olarak görülebilmektedir (16).

Tablo 1: Atopik kedilerde uygulanan intradermal alerjen testinin değerlendirilmesi (17).

Alerji Nedenleri	Görülme oranı (%)
Polen, Çim, Ot (n=17)	30
Ev tozu akarları (n=16)	28
Böcek (n=13)	23
Pire (n=8)	14
Küf mantarı (n=3)	5

2.1. Genetik yatkınlık

Kedinin genetik kökeni kedinin davranış gelişiminde, kedinin mizacında, yeme içme alışkanlıkları ile seçtiği yaşam alanlarında etkili olabilmektedir (18). Safkan kedilerde görülen alerjik dermatitlerde pire alerjisi dermatitlerine nazaran atopik dermatitlere daha sıkça rastlanılmaktadır (19). Himalayan, Siyam, Persiyan, Habeş ve Maine ırkı kedilerde atopik sendroma karşı genetik yatkınlığın olduğu bilinmektedir (8). Kedi atopik sendromunda görülebilen genetik yatkınlıklar 6 aylıktan 3 yaşına kadar sürebilmektedir (5). Atopik sendrom, genetik yatkınlığa sahip olan kedilerin çevresel alerjenlere maruz kalmasından sonra ortaya çıkabilmektedir. Atopik kökenli dermatitlerin gelişimindeki genetik etki kedilerde olduğu gibi köpek ve insanlarda görülebilmektedir (16). Bu hastalık, genetik ve çevresel faktörler arasında meydana gelebilecek kompleks etkileşimlerden kaynaklanmaktadır (13). Atopik sendrom, insan ve hayvanda genetik olarak

bulunabilen kusurlu bir deri bariyeri, perkütan alerji ile sekonder deri enfeksiyonlarını kapsamaktadır. Fenotipik atopik kusurlar ise hayvanlara nazaran insanlarda daha sık görülebilmektedir (20). Deri epitel hücrelerinde bulunan ve epidermal bariyer proteinlerinden olan filagrindeki genetik mutasyonlar, transepidermal su kaybını ve aeroalerjenlere karşı duyarlılığı artırabilmektedir. Böylelikle, deri bariyer hasarı oluşmadan alerjik dermatitler şekillenebilmektedir (21).

2.2. Kedi astımı

Astım, hava akımı kısıtlanması ve tıkanıklığı, hava yolu aşırı duyarlılığı ve hava yolu inflamasyonu ile karakterize, kronik bir solunum yolu hastalığı olarak bilinmektedir. Hava yolu aşırı duyarlılığının hava yollarının spesifik olmayan uyarılara karşı gösterdiği aşırı tepkilerden kaynaklandığı bilinmektedir. Kronik hava yolu inflamasyonu ise plazma ekstrasvazasyonu, eozinofiller, nötrofiller, lenfositler, makrofajlar ve mast hücreleri gibi hücrelerin infiltrasyonundan gelişmektedir (3). Kedi astımı önemli morbidite ve ara sıra mortalite ile seyredabilen kedilerin yaygın alt solunum yolu yangısı olarak bilinmektedir. İnsanlarda olduğu gibi, etkilenen kedilerde geri dönüşümlü olabilen bronkokonstriksiyon, hava yolu iltihabı ve yeniden nüksetme görülebilmektedir (22). Bu hastalık her yaştaki kedide bulunabilmesine rağmen sıklıkla genç kedilerde görülmektedir. Astım hastalığı genetik yatkınlığa bağlı ırk predizpozisyonu içermektedir. Kedilerde siyam, köpeklerde sibiry kurdu ve malamut, atlarda ise safkan İngiliz ırklarının astım semptomları açısından duyarlı hayvan ırkları olduğu bilinmektedir (23). Kedi astımı, aeroalerjenlere karşı tip-1 hipersensitivite tepkisi ile uyarılmış, T yardımcı 2 hücre-dominant sitokin profili olan interlökin tiplerinin varlığı ile karakterize edilebilmektedir (24). Kedi astımı hastalık mekanizması açısından köpeklerde eozinofilik bronkopnöropati ve atlarda ise tekrarlanan hava yolu tıkanıklığı olgularına benzerlik göstermektedir (23). Deneysel modeli iyi karakterize edilmiş kedi astımının gastrointestinal veya solunum yollarını etkileyebilen spontan aşırı duyarlılık bozukluklardan kaynaklı olabileceği hakkında yeterli veri bulunmamasına rağmen, kedi atopik sendromu çevresel alerjenlere karşı IgE antikoları ile ilişkili astımla sonuçlanabilen, inflamatuvar ve kaşıntılı deri alerjik sendromu olarak tanımlanabilmektedir (8). Kedilerdeki astım mekanizması, kronik hava yolu değişikliği ve inflamasyonun geliştiği, epitel ve goblet hücresi hipertrofisi, aşırı mukus üretimi, ödem ve inflamatuvar bronş duvarı infiltratları, alt epitel mukus bezlerinin hiperplazisi ve bronşiyal düz kasların aşırı kasılmasının görülebildiği tekrarlanabilen alerjen maruziyeti olarak açıklanmaktadır (23). Kedi astımının akut formunda dispne, hiperpne, taşipne ve mukozalarda soluk veya siyanotik görünüm mevcut iken kronik formunda dispne, açık ağız solunumu, hırıltılı solunum, kronik öksürük, aşırı halsizlik görülebilmektedir

(24). Kedilerin küçük hava yolu hastalığı olarak da bilinen kedi astımının teşhisinde hem intradermal hem de alerjene özgü IgE seroloji testler yapılabilen ve normal sağlıklı kedilere göre astımı olan kedilerde aeroalerjenlere karşı pozitif reaksiyonların artışı gözlemlenmektedir (16). Oklakitinib'in kedi astımının tedavisi için 28 gün boyunca her oniki saatte bir 0,5-1 mg/kg arasındaki dozlarda kullanıldığında herhangi bir yan etki oluşturmadığı bildirilmektedir (25). Bununla birlikte, bazı durumlarda solunum belirtilerinin şiddetinin, eşzamanlı oluşan deri hastalığının varlığını gölgeleyebilmesinden ve kedi astımı tedavisinde kullanılan glukokortikoidlerin kutanöz alerji belirtilerini kontrol altına alabilmesinden dolayı kedi atopik sendromu ve kedi astımı olgularının klinik görünümü maskelenebilmektedir (26).

3. Klinik bulgular

Kedilerde alerjik dermatitler çevresel, gıda veya böcek alerjenlerinin yanı sıra diğer hastalıkların da neden olabileceği çoklu kutanöz reaksiyon modelleri ile kendini göstermektedir (22). Klinik bulgulara dayalı tanı kriterleri içinde dört klinik modelden (simetrik alopesi, miliyer dermatit, eozinofilik dermatit ve baş ve boyun erozyonları ya da ülserleri) en az ikisinin varlığı kedi atopik sendromu olgusunu işaret etmektedir (27). Kediler, dermatitlere neden olabilen alerjenlere karşı coğrafik bölge ve yaşam tarzına bağlı olarak mevsimsel veya mevsimsel olmayan semptomlar gösterebilmektedir (20). Bu semptomlar çevresel alerjenlerden kaynaklı oluşabilen aşırı duyarlılık haline bağlı kaşıntı, alerjik dermatit veya atopik sendrom olarak karşımıza çıkmaktadır (11). Piresiz, gıda dışı aşırı duyarlılık dermatiti olan bu sendromun, kaşıntı gösteren kedilerin yaklaşık olarak %20'sinde bulunduğu bildirilmektedir (28). Servikofasiyal kaşıntılı dermatitin bir parçası olan pinnal kaşıntının, atopik sendromlu kedilerde yaygın bir klinik bulgu olduğu bilinmektedir (26). Ayrıca bu hastalıkta derideki şiddetli kaşıntıya bağlı olarak artan yalama ve ısırma davranışlarının sonucu eritemlerin artması ve alopesik alanlarda bakteriyel veya fungal kökenli sekonder enfeksiyonların gelişmesi gözlemlenmektedir (29). Atopik sendromlu kedilerde ilk klinik belirtiler genellikle üç yaşından önce görülmektedir. Hastalıkla ilgili daha çok bilgi edinilmesi açısından atopik sendromun prevalansı ve insidansı hakkında yapılacak çalışmaların da yaygınlaşması gerekmektedir (2). Kedi atopik sendromunda, alerjik orta kulak iltihabı, sinüzit, konjunktivitis ve astım gibi kutanöz olmayan diğer klinik belirtilere de rastlanılmaktadır (16). Ayrıca, kedi atopik sendromunda pododermatit, yüzde eritem ve seboreik bozukluklar gibi klinik bulgular görülebilmektedir (2). Dudak bölgesinde herhangi bir lezyonun varlığı, çene veya boyunda erozyon veya ülser varlığı, sağrı üzerinde herhangi bir lezyonun ya da simetrik olmayan alopesinin görülmemesi ile nodül veya tümörün oluşmaması atopik sendromun diğer klinik bulguları

arasında yer almaktadır (27). Kedi atopik sendromunun bağışıklık mekanizması belirsizliğini korusa da histopatolojik açıdan bu sendrom köpeklerde ve insanlarda görülen kronik atopik dermatitis lezyonlarıyla benzerlikler göstermektedir (2). Otoskopik muayenede dış kulak kanallarının normal görünümüne ve sekonder eritematöz otitis eksternanın varlığına atopik dermatitisi olan köpeklerin aksine kedi atopik sendromlu kedilerde rastlanılmaktadır (26). Ayrıca, kedi atopik sendromu klinik açıdan çevresel alerjen reaksiyonlarına, aynı kedide ortaya çıkabilecek kutanöz olumsuz gıda reaksiyonlarına ve astımın bazı belirtilerine benzemektedir (4). Kedi atopik sendromunda insanlar ve köpeklerde görülebilen atopik dermatitisin klinik belirtilerinin aksine kutanöz lezyonlara daha çok rastlanılmaktadır (24). Doğuştan gelen veya edinilmiş bağışıklık sistemine dahil olan hücre tiplerinden, Langerhans hücreleri ve dendritik hücreler, aşırı duyarlılık dermatiti olmayanlara kıyasla alerjik kedilerin derisinde değişken sayılarda görülebilmektedir. Özellikle milier dermatit gibi kedi alerjik dermatitin iltihaplı lezyonlarında eozinofilik infiltrasyona rastlanılmaktadır (26). Sağlıklı ve alerjik kedilerin derisi üzerinde bulunabilen bakteri ve mantar popülasyonları incelendiğinde her iki grupta hem fungal hem de bakteriyel disbiyozun görüldüğü bilinmektedir (4). Ayrıca, stafilokok türlerine ait izolatların varlığına kedilerin normal kutanöz ve mukozal bakteriyel mikrobiyotasında rastlanılmaktadır. Atopik dermatitisi insanların ve köpeklerin florasında gözlenen stafilokok oranlarındaki artışın ise benzer şekilde sağlıklı kedilerle karşılaştırılan alerjik dermatitli kedilerde daha yüksek olduğu belirtilmektedir (30).

Tablo 2: Atopik karakterli dermatitlerin hayvan türleri arasındaki özellikleri (13).

Özellikler	Kedi	Köpek	At
Yaş aralığı	1-3 yaş	1-3 yaş	1-2 yaş
Prevalans (%)	10-20	20-30	20-40
Vakalarda IgE etkisi (%)	60	80	95
Deri bariyeri hasarı	Yok	Var	Var
Stafilokok enfeksiyonu	Nadir	Aşırı yaygın	Yaygın

4. Tanı

Günümüzde hem hayvanlarda hem de insanlarda görülen alerjik hastalıkların yaşam çevresindeki değişikliklere ve mikrobiyel veya paraziter etkenlere maruz kalmaya bağlı olarak teşhis edildiği görülmektedir (13). Kedi atopik sendromunun tanısı için köpeklerde ve diğer türlerdeki

alerjik dermatitlerde olduğu gibi paraziter enfestasyonların ve diğer alerjik hastalıkların elenmesinin önemli olduğu bilinmektedir (16). Kedilerde alerjik ve alerjik olmayan dermatozlar arasındaki klinik görünümdeki çarpıcı benzerlikler nedeniyle tanıya gitmek zor olabilmektedir. Bu nedenle, hastanın kedi atopik sendromu ile tutarlı olabilecek klinik belirtilerinin varlığı bu sendroma benzeyen diğer deri hastalıklarının eliminasyonunda etkili olabilmektedir (24). Kedi atopik sendromu tanısı konulmadan önce ise gıda alerjisi veya pire ısırığı aşırı duyarlılığı olgularının varlığı araştırılmalıdır (22). Atopik sendromda tanısız olarak pire ısırığı aşırı duyarlılığına dikkat edilerek ektoparaziter hastalıkların, sekonder deri enfeksiyonlarının, otitisin ve dermatofitozun sitolojik incelemeler yardımıyla ve muhtemel kutanöz olumsuz gıda reaksiyonlarının ise hipoalerjenik diyet yardımıyla elimine edilmesi gerekmektedir. Bu yüzden, hipoalerjenik diyet ile mevsimsel olarak kaşıntısı olmayan bir kedide çevresel alerjenlere bağlı kedi atopik sendromun tanısı koyulabilmektedir (4). Alerjik, atopik, gıda veya pire kaynaklı dermatitlerin tanısında hematolojik ve biyokimyasal analizler ile biyobelirteçlerin kullanımı tek başına yardımcı olamamaktadır (20). Çevresel alerjenlere yönelik uygulanan intradermal veya serum alerjen testleri, kedi atopik sendromunun klinik tanısı açısından önem taşımaktadır (26). Perkütan alerji testi ve serolojik olarak IgE yüksek affinite reseptörüne dayalı ELISA testi kedi atopik sendromunun tanısız seçenekleri arasında gösterilmektedir (4). Kedilerde, alerjene özgü kutanöz reaktivite alerjisinin alerjik bir kediden alerjik olmayan bir kediye transferini göstermek için pasif kutanöz anafilaksi testi de kullanılmaktadır (26). Vakaların yaklaşık % 68'inde, intradermal deri testlerinde alerjene özgü IgE saptanmıştır, bu da çoğu vakanın hepsinde olmasa da alerjik bir bileşene sahip olduğunu düşündürmektedir (13). Tanıda, alerjik hastalıkların oluşumunda IgE etkisi kriter olarak alınmaktadır. Hasta kedilerin çevresel alerjenlerden etkilendiği deri alerji testindeki anında pozitif deri testi reaktivitesi ile belirlenmektedir. Prausnitz-Küstner testi, serolojik testler, Atopi yama testi ve Alerjene özgü immünoterapiye verilen klinik yanıt gibi yöntemler ile alerjik reaksiyon antikorunu olan IgE'nin varlığı tespit edilebilmektedir (3). Atopik sendromun tanısında kutanöz bariyer bütünlüğünün değerlendirilmesi için transepidermal su kaybı, deri hidrasyonu, deri yüzeyi pH'ı veya eritem şiddeti gibi biyofiziksel parametrelerin ölçümleri de yapılmaktadır. Doğrudan deri bariyer disfonksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülen transepidermal su kaybı, sağlıklı hayvanlara kıyasla alerjik hayvanlarda sıkça görülmektedir (31).

5. Ayırıcı tanı

Deri reaksiyonlarının paternleri genellikle alerjik hastalığın göstergesi olarak kabul edilmektedir. Kedi atopik sendromu, köpeklerde görülen atopik dermatitiste olduğu gibi paraziter

(sarkoptik, otodektik ve demodektik uyuz), enfeksiyöz (malassezia bakterileri), pire ısırığına karşı alerjik dermatit, gıda alerjisine bağlı dermatit ve diğer alerjik hastalıklarla karıştırılabilmektedir (2). Her ne kadar, kedilerde görülen atopik dermatite ait lezyonlar köpeklerdeki atopik dermatitis lezyonları ile örtüşse de kedilerde farklı olarak eosinofilik granülom kompleksi meydana gelebilmektedir (32). İntradermal testler ile tespit edilen çevresel alerjenlere karşı pozitif reaksiyonun gelişmesi ile dış parazit veya deri enfeksiyonları kaynaklı olabilen tekrarlayan kaşıntıların varlığı kedi atopik sendromu dışındaki alerjik dermatitlerde görülmektedir (16). Bununla birlikte, şiddetli atopik dermatit varlığında kaşınmaya bağlı kendiliğinden oluşabilen deri yaralanmalarının, psikojenik alopeside görülen deri yolma bozukluğu olgusundan ayırt edilmesi gerekmektedir (18). Kedi herpesvirus-1 ile ilişkili dermatitler ise vezikül, ülser, deride kabuklanma ve yüz ve burun bölgesindeki lezyonlar ile karakterizedir. Bu klinik belirtiler kedi herpesvirus-1'in yanı sıra, eozinofilik granülom kompleksi, kutanöz gıda reaksiyonları ve kedi atopik sendromu gibi aşırı duyarlılık bozukluklarında görülebilmektedir (33). Genel olarak alerjik dermatitlerde olumsuz gıda reaksiyonu ve pire ısırığı aşırı duyarlılığı görülse de kedi atopik sendromunda uygulanan ektoparazit kontrolü ve hipoalerjenik diyet şüpheli durumlarda kedi atopik sendromu olan tüm kedilerde ayırıcı tanı olabilmektedir (34). Atopik sendromun dermatolojik özellikteki diğer hastalıklarla birkaç farklılık göstermesi, çalışmalarda elde edilen klinik reaksiyon modellerinin herhangi bir patognomoniye ve alerjen grubuna özgü özellikte olmamasından dolayı ayırıcı tanıda benzer diğer kaşıntı nedenlerinin dışlanması ve belirli tedavi prosedürlerine verilen yanıtların değerlendirilmesi hastalığın tanısal önemini korumaktadır (35).

Tablo 3: Deri hastalığı olan kedilerde tespit edilen dermatolojik hastalıkların görülme oranları (36).

Tanımlanan hastalıklar (n=153)	Görülme oranları (%)
Alerjik dermatit (n=63)	41
Gıda alerjisi (n=19)	12,5
Pire ısırığı alerjisi (n=14)	9
Dermatofitoz (n=13)	8,5
Eosinofilik granüloma (n=10)	6,5
İdiopatik boyun lezyonu (n=10)	6,5
Çene aknesi (n=7)	4,5
Otoakariyazis (n=6)	4
Böcek ısırığı aşırı duyarlılığı (n=6)	4
Pemphigus foliaceus (n=5)	3,5

6. Tedavi

Atopik sendromlu kedilerde pratik terapötik yaklaşım söz konusu olduğunda, hipoalerjenik eliminasyon diyeti eşliğinde teşhis, ilk aylar alerjene özgü immünoterapisi, uzun vadeli semptomatik tedavi ve hastalığın alevlenme döneminin yönetimi dönemleri göz önünde bulundurulmalıdır (37). Tedavinin başarılı olması için, parazitik, mikrobiyal, stres veya anksiyete gibi klinik belirtileri şiddetlendirebilen faktörler kısa süre içindeki tespit edilerek ortamdan uzaklaştırılmalıdır (2). Multimodal tedavi yaklaşımı, kaşıntı ve inflamasyonu klinik belirti eşliğinin altına düşürmek için farklı tedavileri birleştirmeyi ve aynı zamanda anti inflamatuvar veya immünsüpresif ilaçların dozajını azaltmayı amaçlamaktadır (10). Alerjen immünoterapisi, topikal, inhale veya sistemik glukokortikoidler, siklosporin, oklakitinib, bronkodilatörler, H1-reseptör antihistaminleri, esansiyel yağ asitleri ve palmitoiletanolamid, antibiyotikler, inhale lidokain ve mezenkimal kök hücre uygulamaları gibi tedavi seçenekleri kedilerin atopik sendromunda kullanılabilir (22). Etiyolojik tedavi, alerji testi ve hiposensitizasyona dayanmaktadır. Bu tedavi modelinde alerji testi sonucu alerjenlerin tanımlanması, alerjiden kaçınma, immünoterapi ve semptomatik tedavi bulunurken, semptomatik tedavi modelinde ise glukokortikoidler, siklosporin, antihistaminikler, oklakitinib, palmitoiletanolamid, maropitant ve Omega-3, Omega-6 yağ asidi takviyeleri bulunmaktadır (37). Glukokortikoid ve siklosporinin kedi atopik sendromunun tedavisinde en yaygın kullanılan ajanlar olduğu bilinmektedir. Daha az kullanım etkinliği olan diğer tedaviler arasında ise alerjene özgü immünoterapi, yağ asitleri, palmitoiletanolamid (PEA) ve antihistaminikler bulunmaktadır (9). Siklosporin, geniş kapsamlı immünosüpresif etkileri olan kalsinörin inhibitörüdür. Siklosporin sitokin baskılaması, immün hücre modülasyonu yapabilmesi ve alerjik deri hastalığının belirtilerini kontrol altına alabilmesinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Siklosporin günde bir kez kullanılması ve bulgulara göre doz ayarlamasının yapılabilmesi ilaç etkileşimleri açısından önem taşımaktadır (38). Siklosporinin atopik sendrom tedavisinde maksimum etkinliğine ulaşması için yaklaşık 2-3 haftalık bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır (9). Siklosporin uygulanan kedilerde kusma (% 35), kilo kaybı (% 20) ve ishal (% 15) gibi yan etkilere rastlanılabilmektedir. Bu nedenle, siklosporin uygulanan kedilerde vücut ağırlığının izlenmesi önerilmektedir (13). Ayrıca, tedavide azaltılmış dozlar şeklinde kullanılan glukokortikoidlerin uzun süreli uygulamaları potansiyel yan etkiler nedeniyle tercih edilmemektedir (10). Oklakitinib'in ise atopik sendromlu kedilerin <math><50\%</math>'inde kaşıntıyı ve deri alerjisi ile ilişkili klinik belirtileri baskıladığı bildirilmektedir (9). Kusma belirtisi ve lokomotor hastalığı olan kedilerde kullanılan maropitant, nörokinin-1 reseptör antagonistidir. Maropitant,

pruritojenik nörokinin olan P maddesini inhibe edebilmesinden dolayı atopik sendromlu veya alerjik dermatitli kedilerde kaşıntı ve deri lezyonlarının kontrolünde kullanılabilir (15). Palmitoiletanolamid, antialerjik ve antiinflamatuvar etkileri olan doğal bir lipid bileşimidir. PEA'nın mast hücrelerini, keratinositleri, makrofajları ve proinflamatuvar T hücrelerini modüle ettiği bilinmektedir. Atopik sendromda yaklaşık bir aylık oral tedaviyi takiben eritem, kaşıntı ve alopesi gösteren vakaların çoğunda iyileşmelere rastlanıldığı bildirilmektedir (10). Atopik sendromlu kedilerde deri ve tüy sağlığının iyileştirilmesinde Omega-3 yağ asidi, linoleik asit ve deri bariyerini güçlendirmeye yardımcı olabilecek komponentler içeren kuru mama halinde formüle edilmiş diyetler de kullanılmaktadır (28). Ayrıca, alerjene özgü immunoterapinin insanlarda ve köpeklerde alerjik solunum ve deri hastalıklarının klinik belirtilerinin kontrolünde ve uzun vadeli tedavilerde tedavi süresinin azaltılmasında etkili olduğu ve bu tedavinin subkutan uygulamalarının da Veteriner hekimlikte yaygınlaştığı bildirilmektedir (7).

7. Alerjene özgü immunoterapi

Alerjene özgü immünoterapi (ASIT)'nin IgE ile ilişkili alerjiden muzdarip hastalarda ve yaygın olarak immünolojik kaynaklı aşırı duyarlılık gösteren vakalarda kullanılan bir tedavi şekli olduğu bilinmektedir. Tedavi prensibi alerjene özgü bloke edici IgG antikorlarına ve hücrel immün yanıtta yapılan değişikliklerden oluşan bağışıklığı indüklemek amacıyla hastalığa neden olan alerjenin uygulanmasına dayanmaktadır (39). İmmünoterapinin amacının, nedensel alerjenlere tekrar tekrar maruz kalma ile ilişkili klinik belirtilerin başarılı bir şekilde azaltılması veya ortadan kaldırılması olduğu ve kedi atopik sendromunda kullanılan alerji testlerinin amacının ise ASIT'e dahil edilecek alerjenlerin seçilmesi ve hasta kedilerin belirlenmiş alerjiden kaçınma önlemlerinin geliştirilmesi olduğu bilinmektedir (6). Alerjen immünoterapi, alerji tedavilerinin kesilmesinden sonraki birkaç yıl boyunca bile kullanılabilen, klinik açıdan faydaları ve hastalığa özgü sağaltıcı özelliği bilinen bir tedavi modeli olarak karşımıza çıkmaktadır (40). ASIT, ektoparaziter tedavi veya hipoalerjenik eliminasyon diyetine yanıt alınamayan ve intradermal testler sonucunda tespit edilebilen atopik sendromlu kedilerde uygulanabilmektedir (24). ASIT'in tedavide %60 ile %78 arasında değişen başarısından dolayı atopik sendrom tedavisinde güvenli ve etkili bir seçenek olabilmektedir. Klinik belirtilerde tam iyileşme gösterebilecek olan ASIT, kaşıntı önleyici ilaçların kullanımının azaltılmasında etkili olabilmektedir (6). ASIT'de atopik sendromlu kedilerde oral veya sublingual alerji damla uygulamalarına kıyasla subkutan enjeksiyon uygulaması sıkça kullanılmaktadır (16). Foj ve ark. (2021) yaptığı çalışmada atopik kedilerde kullanılan ASIT'nin sublingual uygulamalarının subkutan uygulamaya nazaran daha hızlı, daha etkili, daha güvenli ve

tolere edilebilen bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmektedir (7).

8. Sonuç

Atopik dermatitler köpeklerde daha çok kutanöz belirtilerle, kedilerde ise genellikle astım belirtileri ile karşımıza çıkmaktadır. Alerjik kedilerde kutanöz, gastrointestinal ve solunum sistemi hastalıkları tetiklenebilmektedir. Kedi atopik sendromun tanısında ise pire ve gıda kaynaklı alerjik dermatitlerin elimine edilmesi gerekmektedir. Bu sendromun daha etkin olarak değerlendirilmesi için sendroma ait fenotipik varyasyonların, klinik dermatolojik belirtilerin, farklı klinik belirtilerin farklı tedavilere verdiği yanıtlar ile hastalığın immunopatogenezi hakkında daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Roberts ES, Speranza C, Friberg C, Griffin C, Roycroft L, et al. Confirmatory field study for the evaluation of ciclosporin at a target dose of 7,0 mg/kg (3,2 mg/lb) in the control of feline hypersensitivity dermatitides. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2016; 18: 889-897. doi: 10.1177/1098612X16636660.
2. Paiva LMM, Pietroluongo B. Dermatite de hipersensibilidade não associada a pulgas e alimentos no paciente felino-relato de dois casos Non-Flea, Non-Food Hypersensitivity Dermatitis in the feline patient – two case report. *Scientific Journal of Veterinary Medicine - Small Animals and Pets; Edition 48, 2018; 2: 26-32.*
3. Halliwell R, Banovic F, Mueller RS, Olivry T. Immunopathogenesis of the feline atopik syndrome. *Veterinary Dermatology* 2021; 32: 13-e4. doi: 10.1111/vde.12928.
4. Colombo S. Feline Allergy. *Feline Dermatology*. April, 7-14, 2020; Birmingham-England.
5. Ural K, Paşa S, Erdoğan H, Gültekin M, Ural DA, et al. House dust mite specific in vitro IgE determination in cats with allergic dermatitis. *MAE Veteriner Fakültesi Dergisi* 2019; 4: 14-17. doi: 10.24880/maevfd.526315.
6. Bajwa J. Atopik dermatitis in cats. *Canadian Veterinary Journal* 2018; 59: 311-313.
7. Foj R, Carrasco I, Clemente F, Scarpella F, Calvet A, et al. Clinical efficacy of sublingual allergen-specific immunotherapy in 22 cats with atopik dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2021; 32: 67-e12. doi:10.1111/vde.12926.
8. Halliwell R, Pucheu-Haston CM, Olivry T, Prost C, Jackson H, et al. Feline allergic diseases: introduction and proposed nomenclature. *Veterinary Dermatology* 2021; 32: 8-e2. doi:10.1111/vde.12899.
9. Noli C, Matricoti I, Schievano C. A double-blinded, randomized, methylprednisolone-controlled study on the efficacy of oclacitinib in the management of pruritus in cats with nonflea nonfoodinduced hypersensitivity dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2019; 30: 110-e30. doi:10.1111/vde.12720.
10. Noli C, della Valle MF, Miolo A, Medori C, Schievano C, et al. Effect of dietary supplementation with ultramicronized palmitoylethanolamide in maintaining remission in cats with nonflea hypersensitivity dermatitis: a double-blind, multicentre, randomized, placebo-controlled study. *Veterinary Dermatology* 2019; 30: 387-e117. doi:10.1111/vde.12764.

11. Ural K, Gül G, Gültekin M, Erdoğan S, Erdoğan H, ve ark. Baş boyun bölgesi dermatitli kedilerde korneometrik analizlerle deri hidrasyonunun ölçümü. *MAE Veteriner Fakültesi Dergisi* 2019; 4: 1-7. doi:10.24880/maeuvsf.521268.
12. Flanagan S, Schick A, Lewis TP, Tater KC, Rishniw M. A survey of primary care practitioners' referral habits and recommendations of allergen-specific immunotherapy for canine and feline patients with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2021; 32: 106-e21. doi:10.1111/vde.12918.
13. Marsella R, De Benedetto A. Atopic Dermatitis in Animals and People: An Update and Comparative Review. *Veterinary Sciences* 2017; 4: 37. doi: 10.3390/vetsci4030037.
14. Fortson EA, Li B, Bhayana M. Introduction. Fortson EA, Feldman SR, Strowd LC. eds. In: *Management of Atopic Dermatitis*. Springer, 2017; pp. 1-11.
15. Maina E, Fontaine J. Use of maropitant for the control of pruritus in non-flea, non-food induced feline hypersensitivity dermatitis: an open-label, uncontrolled pilot study. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2019; 21: 967-972. doi: 10.1177/1098612X18811372.
16. Diesel A. Cutaneous Hypersensitivity Dermatoses in the Feline Patient: A Review of Allergic Skin Disease in Cats. *Veterinary Sciences* 2017; 4: 1-10. doi: 10.3390/vetsci4020025.
17. Ravens PA, Xu BJ, Vogelnest LJ. Feline atopic dermatitis: a retrospective study of 45 cases (2001-2012). *Veterinary Dermatology* 2014; 25: 95-102 doi: 10.1111/vde.12109.
18. Titeux E, Gilbert C, Briand A, Cochet-Faivre N. From Feline Idiopathic Ulcerative Dermatitis to Feline Behavioral Ulcerative Dermatitis: Grooming Repetitive Behaviors Indicators of Poor Welfare in Cats. *Frontiers in Veterinary Science* 2018; 5: 1-10. doi: 10.3389/fvets.2018.00081.
19. Gedon NKY, Mueller RS. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clinical and Translational Allergy* 2018; 8: 1-12. doi: 10.1186/s13601-018-0228-5.
20. Jensen-Jarolim E, Herrmann I, Panakova L, Janda J. Allergic and Atopic Eczema in Humans and Their Animals. Jensen-Jarolim E. Eds. In: *Comparative Medicine Disorders Linking Humans with Their Animals*. Springer, 2017; pp. 131-150.
21. Fuxench ZCC. Atopic Dermatitis: Disease Background and Risk Factors. Fortson EA, Feldman SR, Strowd LC. eds. In: *Management of Atopic Dermatitis*. Springer, 2017; pp. 11-19.
22. Mueller RS, Nuttall T, Prost C, Schulz B, Bizikova P. Treatment of the feline atopic syndrome-a systematic review. *Veterinary Dermatology* 2021; 32: 43-e8. doi: 10.1111/vde.12933.
23. Hufnagl K, Hirt R, Robibaro B. Out of Breath: Asthma in Humans and Their Animals. Jensen-Jarolim E. eds. In: *Comparative Medicine Disorders Linking Humans with Their Animals*. Springer, 2017; pp. 71-86.
24. Santoro D, Pucheu-Haston CM, Prost C, Mueller RS, Jackson H. Clinical signs and diagnosis of feline atopic syndrome: detailed guidelines for a correct diagnosis. *Veterinary Dermatology* 2021; 32: 26-e6. doi: 10.1111/vde.12935.
25. Fernandes KsBR, Ferreira MB, da Silva AM, Marques KC, Rocha BZLL, et al. Efficacy of Oclacitinib on Feline Atopic Syndrome Management. *Acta Scientiae Veterinariae* 2019; 47: 374. doi:10.22456/1679-9216.89451.
26. Diesel A. Feline Atopic Syndrome: Epidemiology and Clinical Presentation. Noli C, Colombo S. eds. In: *Feline Dermatology*. Springer, 2020; pp. 451-464.
27. Favrot C, Steffan J, Seewald W, Hobi S, Linek M, et al. Establishment of diagnostic criteria for feline nonflea-induced hypersensitivity dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2012; 23: 45-50. doi:10.1111/j.1365-3164.2011.01006.x.
28. Lespoune I, Boutigny L, Rochon J, Laxalde J, Langon X. Nutritionally-Based Improvement of Cats' Skin & Coat Health, in Non-Flea, Non-Food Induced Hypersensitive Dermatitis. *BSAVA Congress*. April, 448, 2020; Birmingham-United Kingdom.
29. Gershwin LJ. Comparative Immunology of Allergic Responses. *Annual Review of Animal Biosciences* 2015; 3: 327-346. doi:10.1146/annurev-animal-022114-110930.
30. Vogelnest DJ. Bacterial Diseases. Noli C, Colombo S. eds. In: *Feline Dermatology*. Springer, 2020; pp. 213-250.
31. Szczepanik MP, Wilkolek PM, Adamek LR, Kalisz G, Golynski M, et al. Transepidermal water loss and skin hydration in healthy cats and cats with non-flea non-food hypersensitivity dermatitis (NFnFHD). *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2019; 22: 237-242. doi:10.24425/pjvs.2019.127091.
32. Day MJ. Cats are not small dogs: is there an immunological explanation for why cats are less affected by arthropod-borne disease than dogs?. *Parasites & Vectors* 2016; 9: 507. doi:10.1186/s13071-016-1798-5.
33. Mazzei M, Vascellari M, Zanardello C, Melchiotti E, Vannini S, et al. Quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and RNAscope in situ hybridization (RNA-ISH) as effective tools to diagnose feline herpesvirus-1-associated dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2019; 30: 491-e147. doi:10.1111/vde.12787.
34. Noli C. Flea Biology, Allergy and Control. Noli C, Colombo S. eds. In: *Feline Dermatology*. Springer, 2020; pp. 437-450.
35. De Bellis F. Latest Thinking on Atopic Dermatitis in Cats and Dogs. *Vet Times* 2014; April: 1-23.
36. Noli C, Borio S, Varina A, Schievano C. Development and validation of a questionnaire to evaluate the Quality of Life of cats with skin disease and their owners, and its use in 185 cats with skin disease. *Veterinary Dermatology* 2016; 27: 247-e58. doi:10.1111/vde.12341.
37. Noli C. Feline Atopic Syndrome: Therapy. Noli C, Colombo S. eds. In: *Feline Dermatology*. Springer, 2020; pp. 475-488.
38. Irwin K. Cyclosporine in Feline Dermatology. Little SE. eds. In: *August's Consultations in Feline Internal Medicine*. Elsevier, 2016; pp. 317-325.
39. Dorofeeva Y, Shilovskiy I, Tulaeva I, Focke-Tejkl M, Flicker S, et al. Past, present, and future of allergen immunotherapy vaccines. *Allergy* 2021; 76: 131-149. doi: 10.1111/all.14300.
40. Novakova P, Tiotiu A, Baiardini I, Krusheva B, Chong-Neto H, et al. Allergen immunotherapy in asthma: current evidence. *Journal of Asthma* 2021; 58: 223-230. doi:10.1080/02770903.2019.1684517.



Süt İneklerinde Sıcak Stresinin Etkileri ve Beslenme Stratejileri

Samet KÖSE¹, Pınar SAÇAKLI¹

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 02.06.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 28.06.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Köse S, Saçaklı P. Süt İneklerinde Sıcak Stresinin Etkileri ve Beslenme Stratejileri. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2): 41-46.

Özet: Yıllardır daha fazla süt almak için genetik seleksiyonlara tabi tutulan inekler küresel çapta artan sıcaklıklara karşı daha hassas hale gelmişlerdir. Hayvanlar vücut ısısını koruyabildiği ve kendini huzurlu hissettiği termonötral zone aralığında maksimum verime ulaşırlar. Bu aralığın üzerine çıkılması durumunda toplam sıcaklık üretiminin vücuttan atılan sıcaklıktan daha fazla olmasıyla inekler sıcak stresine girerler. Sıcak stresinin süt ve döl verimi üzerine olumsuz etkilerini hafifletmek veya önlemek için rasyonda çeşitli düzenlemeler yapılabilir. Sıcak stresinin olumsuz etkileri rasyonda konsantrane yem miktarının artırılması, korunmuş protein, yağ ve bazı vitamin-mineral katkılarının ilave edilmesi gibi düzenlemeler ile önlenir.

Anahtar Kelimeler: Protein, Selüloz, Sıcak stresi, Süt ineği, Yağ

Effects of Heat Stress and Nutritional Strategies in Dairy Cows

Abstract: Dairy cows have become more sensitive to rising temperatures globally, as they have been subjected to genetic selection to produce milk for years. Animals achieve maximum efficiency in the range of the thermo-neutral zone, where they can maintain their body temperature and feel comfortable. If this range is exceeded, cows experience heat stress as the total heat production is greater than the heat excreted from the body. Various arrangements can be made in the ration to alleviate or prevent the negative effects of heat stress on milk and fertility. Adverse effects of heat stress can be prevented by regulations such as increasing the amount of concentrate in the ration, adding protected protein, fat and some vitamin-mineral additives.

Keywords: Dairy cow, Fat, Fiber, Heat stress, Protein

1. Giriş

Hayvanların bulunduğu ortamın sıcaklığı süt ineklerinin verimini olumsuz etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Süt ineklerinde son zamanlarda yapılan genetik çalışmalar ile erken dönemde laktasyon pikine ulaşması hedeflenirken ineklerin termoregülasyon yeteneğinin bu dönemdeki durumuna çok az dikkat edilmektedir. Bu durumda akla şu soru gelmektedir; hangi sıcaklıklar aralığında yüksek verimli süt inekleri sıcak stresine maruz kalır ve hangi sıcaklık üretim, besin madde alımı ve metabolik ısı üretimi için idealdir. Bir ineğin metabolizması anabolik ve katabolik olaylar için gerekli enerjiyi üretebilmek adına bir denge içindedir. Bunun dışında ineklerde biyolojik sürecin sağlıklı işleminin yanında laktasyon ve yavru üretimi içinde ekstra enerji gerekmektedir. Besin madde alımı üretilen süt miktarı ile doğru orantılıdır. Soğuk havalarda alınan besin maddelerinin metabolize olması sonrası ortaya çıkan ısı vücut sıcaklığını dengede tutmak için kullanılırken, sıcak havalarda ise üretilen ısının vücuttan uzaklaştırılması için kullanılmaktadır(1). Vücuttan dışarıya salınan ısının vücutta üretilen ısı düzeyini aşmadığı, vücut ısısının rahatlıkla korunabildiği, hayvanların kendilerini rahat hissettikleri çevre sıcaklığına termonötral zone adı verilmektedir (2). Süt

inekleri için termonötral zone 5-25°C arasında olup (2), alt ve üst kritik sıcaklıklar sırasıyla -13,9°C ve 27,2°C arasındadır (3). Termonötral zone hayvanın yaşı, cinsi, ırkı, besin madde alımı, rasyonun içeriği, üretim, işletmenin yapısı, vücut yağ doku miktarı ve hayvanın davranışlarına göre farklılık gösterir (4). İnekler termonötral zone içerisinde buldukları sürede maksimum verime ulaşırlar. Hayvanlar ortam sıcaklığının 26°C üzerine çıkması durumunda kendilerini serinletemez ve sıcak stresine girerler (1). Bu durumda toplam ısı üretimi vücuttan atılan ısıdan daha fazladır (5). Sıcak stresi hayvanların vücut ısısını tam anlamı ile korumak için yeterli miktarda ısıyı dağıtamadığı nokta olarak tanımlanabilir. Sıcak stresinin şiddetini etkileyen çevresel faktörler sıcaklık, nem, rüzgâr ve radyasyondur (6). Yüksek verimli süt ineklerinin vücut sıcaklığı aşırı ısı artışlarına karşı çok duyarlıdır ve bu nedenle vücut sıcaklığı ölçümü sıcak stresinin anlaşılmasında kullanılan en hassas yöntemlerden biridir (7). McDowell ve ark. (8) bu ölçüme ek olarak sıcaklık-nem indeksinin de kullanılabileceğini bildirmiştir. Sıcaklık nem indeksi (Termal Humidity Index -THI) ölçümü Broucek ve ark. (9) tarafından bildirildiği üzere $THI = ((0,8x \text{ Sıcaklık } ^\circ C) + ((\% \text{ Nispi Nem}/100) x (\text{Sıcaklık } ^\circ C -14,4)) + 46,4))$

olarak hesaplanır. Sıcaklık nem indeksi sınıflandırmasına göre; indeksin 72'den küçük olduğu durumlarda hayvanlarda stres şekillenmezken, 72-78 arasında orta düzeyde, 79-89 arasında şiddetli, 90-98 arasında çok şiddetli stres şekillenir ve 98 üzerinde ölümler gerçekleşir (10).

2. Sıcak stresinin etkileri

Süt ineklerinin de dâhil olduğu tüm canlılarda maksimum üretim termonötral aralıkta olur. Bu aralıkta gerçekleşen değişim metabolizmayı olumsuz etkilemektedir. Yüksek verimli inekler düşük verimli ineklere göre bu değişimden daha fazla etkilenirler. Sıcak stresi sırasında solunum ve terleme ile vücuttan sıvı kaybı artar. Eğer bu kayıp kontrol edilmez, sıvı kaybı kritik seviyeye ulaşırsa, bu durum hayvanların termoregülasyonu ve kardiyovasküler sistemi için tehlike oluşturur (11). Sıcak stresi esnasında memeli hayvanlarda homeostatik dengeyi sağlamak adına dışkı ve idrarla atılan sıvı miktarı, yem tüketimi, üretim ve kalp atım sayısı azalırken terleme ve solunum sayısı artar. Sıcak stresinin olumsuz etkilerine karşı hayvanlarda yanıt olarak fiziksel, biyokimyasal ve fizyolojik değişimler şekillenir. Bu değişimlerin amacı sıcaklık dengesinin yeniden düzenlenmesidir (1). Çevre sıcaklığındaki küçük bir artış bile hayvanların ayakta kalma süresini artırabilir (12). Bir ineğin günün yarısına yakını ayakta geçirmesi ayak problemlerini arttırabilmektedir (13) ve buna bağlı olarak ayak problemleri yaz aylarında kış aylarına göre daha fazla görülebilmektedir (14). İneklerin dinlenme sürelerinin kısılması süt verimini de olumsuz etkilemektedir. Hayvanların dinlenme sürelerindeki her bir saatlik artışın süt üretimini 1,7 kg arttığı hesaplanmıştır (15).

Rektal sıcaklık, termal dengenin bir göstergesidir ve süt ineklerinin laktasyonunu ve üremesini etkileyebilecek termal ortamın olumsuzluklarını değerlendirmek için kullanılabilir (16). Rektal sıcaklıkta 1°C veya daha az bir artış, çoğu çiftlik hayvanı türünde performansın düşmesine neden olabilmektedir. Bu durum vücut sıcaklığını inekte sıcaklık stresine karşı fizyolojik tepkinin hassas bir göstergesi yapar çünkü normal koşullar altında rektal sıcaklık neredeyse sabittir (1).

Sıcak stresinin olumsuz sonuçlarından biri de solunum sayısının artmasıdır. Solunum sayısının artması ile birlikte vücuttan atılan karbondioksit ile birlikte asit-baz dengesinde bozulmalar meydana gelir (17).

Süt ineklerinde fazla ısının atılması için gerçekleştirilen terleme iki şekilde olur: birincisi fark edilmeyen ve sürekli olarak şekillenen terleme ile sıcaklığın stres oluşturacak seviyeye çıkması sonrası buharlaşma şeklinde olan terlemedir (1). Terleme fazla ısının vücuttan uzaklaştırıldığı en efektif yöntemdir. Terleme, en efektif mekanizma olmasına rağmen terleme esnasında bazı elektrolitlerin kaybı vücutta asit-baz dengesinin bozulmasına sebep olur. Su, sodyum, potasyum ve klor terin en önemli bileşenleridir.

Rasyona sodyum bikarbonat veya tuz ilave edilmesi şekillenebilecek ruminal asidozun önlenmesi açısından önemlidir (17).

Laktasyondaki ineklerde vücut toplam su miktarı %75-81 arasında değişmektedir. Sıcaklık, nem, kuru madde tüketimi, rasyon ve süt üretimi su tüketimini düzenleyen en önemli çevresel faktörlerdir (18). Yüksek verimli süt inekleri düşük verimlilere göre daha fazla kuru madde ve suya ihtiyaç duyarlar ve bu ikili arasında pozitif korelasyon vardır (19). Yüksek verimli inekler günde 200 litreye yakın su içebilirler. Hayvanlara verilen suyun kalitesi ve temizliği bu yüzden kontrol edilmelidir (17).

Çevre sıcaklığının artması hipotalamustaki açlık merkezini olumsuz etkileyerek yem tüketimini kısıtlar (20). Yem tüketimi laktasyondaki ineklerde sıcaklığın 25-26°C olduğu zamanlarda azalmaya başlarken sıcaklığın 40°C'yi bulması ile bu azalma %40'lara kadar varabilir (21). Yem tüketiminin azaltılması vücut ısısının düşürülmesi için kullanılan bir yoldur (1). Sonuç olarak yem tüketiminin düşmesine bağlı hayvanlarda negatif enerji dengesi (NEB), canlı ağırlık kaybı ve vücut kondisyon skorunda düşmeler şekillenir (22). Sıcaklık derecesinin artması rumenin ana fizyolojik mekanizmalarını olumsuz etkileyerek B vitamini, aminoasit, uçucu yağ asitleri gibi hayvanların ihtiyacı olan besin maddelerin üretimini sınırlandırır (1). Silanikove (24), sıcak stresine bağlı fazla miktarda tüketilen suyun rumen içeriğinin sıvı miktarını arttırdığını bildirmiştir. Rumende sıvı miktarının artması rumen kapasitesini olumsuz etkileyerek diğer besin maddelerinin alınabilmesi için gerekli alanı kısıtlar. Kaba yem alımının azalması ve rumende artan sıvı miktarı rumen bakteri popülasyonunu etkiler ve rumen pH'sı 5,82 den 6,03'e yükselir (23). Besin madde alımının azalması hayvanların performansını, metabolik dengeyi ve üremeyi olumsuz etkiler (17).

Sıcak stresi süt üretimi ve kompozisyonunu olumsuz etkilerken bundan en çok yüksek verimli süt inekleri etkilenir (25). Hayvanlar sıcak stresi ile başa çıkmak amaçlı yem tüketimini kısıtlar ve negatif enerji dengesine (NED) girerler ve bu durum süt üretiminin azalmasının en önemli sebebidir (26). West (27), sıcaklığın 1°C artmasının kuru madde tüketiminde 0.85 kg'lık bir azalmaya, bu durumun ise süt veriminde %36'ya varan kayıplara sebep olduğunu bildirmiştir. Bouraoui ve ark. (25) sıcaklık nem indeksi (THI) ile süt verimi arasında negatif bir korelasyon olduğunu, indeksin 68'den 78'e çıkmasının kuru madde tüketimini %9.6, süt verimini ise %21 oranında azalttığını bildirmiştir.

Sıcak ve nemli çevre sadece süt verimine etki etmekle kalmayıp sütün kompozisyonunu da etkilemektedir. Kadzere ve ark. (1) sıcaklık stresine bağlı süt yağında %39,7 oranında, yağsız kuru maddede %18,9 oranında, proteinde ise %16,9 oranında azalmalar olduğunu belirtmiştir.

Bouraoui ve ark. (25) yazın süt kompozisyonunda yağ ve proteinin düştüğünü bildirmiştir. Sıcaklık nem indeksinin 72'nin üzerine çıktığı durumlarda kazein, laktalbumin, IgG ve IgA seviyelerinde azalmalar gözlemlenmiştir (28).

İneklerden daha fazla süt alabilmek için yapılan genetik çalışmalar yaz aylarında inekleri sıcak stresine karşı daha duyarlı hale getirmiştir ve bu durum süt verimi, laktasyon persistensi ve süt kalitesine olumsuz yansımaktadır (17). Sıcak stresinin olumsuz etkilerinden biri de östrusun şiddetini ve uzunluğunu etkileyip, anöstrus insidensini arttırmasıdır (29). Bu durumda vücutta adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortizol seviyesi artarken (29), östradiol üretimi bloke edilerek hayvanların seksüel davranışları göstermesi engellenir (30). Östradiol sekresyonunun bloke edilmesi östrus oluşumunu, ovulasyonu, gametlerin taşınımını ve fertilizasyonu olumsuz etkiler. Sıcak stresi aynı zamanda oosit gelişimini de olumsuz etkiler (29).

Suni tohumlama başarı oranı serin havalarda %40-60 oranında değişirken, bu durum sıcak havalarda strese bağlı %20'ye kadar düşmektedir (31). Amundson ve ark. (32) sıcaklığın 16,7°C, THI'nın 72,9'u geçtiği yaz aylarında gebe kalma oranının %62, bahar aylarında ise %44 oranında düştüğünü bildirmiştir.

Sıcak stresi embriyo kalitesi ve büyümesini olumsuz etkileyerek embriyoların gelişerek blastosist halini almasını engeller. Stres; erken embriyonik gelişim, erken embriyonik ölüm ve fetal büyümenin gerilemesine sebep olur (6).

Sıcak stresine bağlı süt veriminin azalması ve reproduktif başarının düşmesi çiftliklerin kar marjını düşüren en büyük problemdir. Bu durumun önlenmesi için çiftliklerde sıcak stresinin etkilerini en aza indirecek önlemlerin alınması gerekmektedir (33).

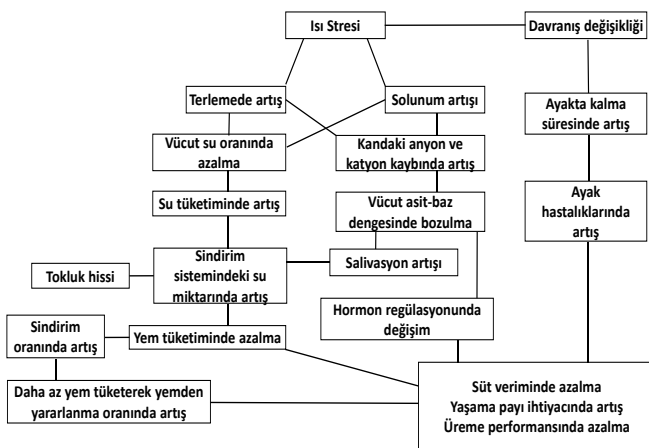
3. Sıcak stresine karşı beslenme stratejileri

3.1. Su

Süt ineğinin sıcak hava koşullarında serinlemek amacıyla solunum sayısını artırması ve daha fazla terlemesi su kaybının artmasına neden olur ve buna bağlı olarak su tüketiminde artış görülür (34). Su, vücudun en temel bileşenidir ve termoregülasyon, ozmotik regülasyon, elektrolit dengesi, besin maddelerinin taşınması ve boşaltımı için gereklidir. Yüksek verimli süt ineklerinin metabolizma hızı diğer ineklere göre daha hızlıdır. Bu durum, artan vücut ısısının dağıtılmasını zorlaştırmakta ve termoregülasyon için hayvanların daha fazla suya ihtiyaç duymalarına sebep olmaktadır (35). Sıcak havalarda içilen suyun en önemli fiziksel özelliği sıcaklığıdır. Suyun sıcaklığının daha düşük olması termal dengenin korunması açısından önemlidir. Laktasyondaki ineklere verilen suyun 10°C civarında olmasının vücut sıcaklığının ve solunum sayısının düşürülmesinde etkili olduğunu bildirilmiştir (36). Ayrıca içme suyu sıcaklığının uygun olması kuru madde tüketimini arttırarak süt veriminin artışına da olumlu etki eder (37).

3.2. Ham selüloz

Süt sığırlarında sıcak stresine bağlı kuru madde tüketiminin azalmasıyla rasyonda yeterli miktarda asit deterjan lif (ADF) ve nötral deterjan lif (NDF) oranı sağlanamamaktadır. Bu durumda azalan kuru madde içerisinde hayvanların ihtiyacı olan enerjiyi sağlayacak, enerji bakımından daha zengin yem maddelerinin normalden daha fazla oranda kullanılma zorunluluğu doğmaktadır (34). Beslemede enerji sınırlandırıcı bir değerdir ve rasyondaki enerji yoğunluğunu arttırmayı amaçlayan yaklaşım ise konsantre yem oranının arttırılarak kaba yem oranının azaltılmasıdır (38). Reynolds ve ark. (39) %75 konsantre yem içeren rasyonun, %75 yonca içeren bir rasyona kıyasla daha az ısı üretimi oluşturduğunu bildirmiştir. Bu nedenle, artan selüloz oranı ısı yükünü ve ısı stresini arttırabilmektedir. West ve ark. (40) sıcak havalarda ineklerin düşük selüloz düzeyi ile (NDF %30) beslemenin yüksek selülozlu rasyonlarla beslemeye (NDF %42) kıyasla süt üretimi, vücut ısısı ve solunum sayısı üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, rumen aktivitesinin sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi için rasyonda yeterli düzeyde selüloz bulunması gerekmektedir (38). Kanjanaputhipong ve ark. (41) sıcak ve nemli şartlar altında, ineklerin doğumundan 3 hafta önceki rasyonunun NDF düzeyinin (kaba yemden alınan NDF bazında %21'den %17,4'e) düşürülmesinin doğum sonrası metabolizma ve süt üretimi üzerine faydalı olduğunu bildirmiştir. Ruminantlarda, konsantre yem düzeyinin arttırılmasına bağlı düşük metabolik ısı artışı sağlayacak şekilde formüle edilmiş rasyon, sıcak stresi altında yem tüketimini ve genel performansı iyileştirmeye yardımcı olabilir. Yüksek karbonhidratlı rasyon, sıcak koşullar altında kullanılabilir, fakat bu durumun rumen asidozuna sebep



Şekil 1: Sıcak stresinin etkileri [(Atrian ve Shahryar (17)'dan uyarlanmıştır].

olabileceği unutulmamalıdır (27). Rumen asidozunun önlenmesi ve rumenin sağlıklı bir şekilde işlevini yerine getirebilmesi için rasyonun ADF ve NDF oranı kuru madde bazında %18 ve %28 arasında olmalıdır (40).

3.3. Protein

Sıcak stresi altındaki ineklerin yem tüketimindeki azalmaya bağlı olarak negatif azot dengesi içerisinde olduğu bildirilmiştir (42). Yem tüketiminden kaynaklı azalma, rasyonun protein içeriğinin artırılmasıyla azaltılabilir ve bu durum fazla miktarda azot alınmasına yol açabilir. Aşırı derecede rumende parçalanabilen protein içeren rasyonlarla besleme sıcak stresinde kuru madde tüketiminin azalmasına ve süt veriminin düşmesine neden olur (43). Ham proteinin metabolik kullanımını nedeniyle endojen ısı üretimi artar ve bu nişasta veya yağ ile üretilen ısıdan daha yüksektir. Ham proteininden kaynaklı daha fazla ısı artışı, üre sentezi ve daha fazla protein kaybı ile kısmen ilişkilidir (38). Sıcak stresi altındaki hayvanların beslenmesinde kullanılan proteinin miktarının yanında kalitesi de önemlidir. Huber ve ark. (43) yapmış olduğu çalışmada sindirilebilirliği düşük (%59) ve %16,1 ham protein içeren rasyonla beslenen ineklerin, sindirilebilirliği yüksek (%65) ve içeriğinde %18,5 ham protein içeren rasyonla beslenenlere göre daha fazla süt verdiğini bildirmiştir. Rasyona ek olarak ilave edilen esansiyel amino asitler süt ineklerinde sıcaklık stresi riskinin önlenmesinde etkili olabilmektedir. Metiyonin, yüksek verimli süt inekleri için başlıca sınırlayıcı amino asitlerden biridir (44). Rasyona metiyonin ekstra olarak takviye edilmesi, süt üretimini ve antioksidan kapasitesini artırır. Aynı zamanda, lizin takviyesi de benzer etki gösterir (45). Huber ve ark. (43) rasyona ilave edilen lizin süt veriminde %11 düzeyinde bir artışa neden olduğunu bildirmiştir. Sonuç olarak, hayvanlarda sıcak stresine bağlı kuru madde tüketiminde azalmalar olursa rasyonda korunmuş protein (özellikle metionin ve lizin) seviyesinin artırılması gerekmektedir (38).

3.4. Yağ

Süt ineklerinin rasyonuna ilave edilen yağ, içerdiği yüksek enerji ve daha düşük metabolik ısı üretmesi sebebiyle, sıcak stresindeki süt ineklerinde net enerji alımını, kaba yem veya nişasta ile karşılaştırıldığında daha çok artırmaktadır (46). Termonötral koşullar altında rasyona ilave edilen korunmuş yağlarla beslenen ineklerin, korunmuş yağlarla beslenmeyenlere kıyasla, laktasyon için metabolize edilebilir enerjisi daha verimli bir şekilde kullandığı bildirilmiştir (47). Rasyona %5'in altında yapılan yağ takviyesi, rumen mikroflorasında (48) toksik etkiye neden olmamıştır. Rasyona eklenen korunmuş yağlar, metabolik ısı artışını önemli ölçüde azaltmakta ve ısı stresi döneminde yağların daha etkin kullanılmasını sağlamaktadır. Tüm bu olumlu faydalarına rağmen yağların sıcak stresindeki hayvanların rasyonunda kullanımına dikkat

edilmeli ve genel olarak bu yağlar rumenin mikrobiyal ortamına zarar vermemesi için korunmuş formda kullanılmalıdır (38).

3.5. Vitamin ve mineraller

Sıcak stresine bağlı yem tüketimindeki azalma bağışıklık ve performans üzerinde önemli rol oynayan vitamin ve minerallerin alımını da sınırlandırır (38). Lin ve ark. (49) rasyona takviye edilen A vitamininin bozulan immün sistemden kaynaklı ortaya çıkan oksidatif yıkımlanmayı hafifletebildiğini bildirmiştir. Vitamin A, vitamin E ve özellikle Se, Cu ve Zn gibi iz elementler meme sağlığı üzerinde önemli rol oynayan mikro besinler arasındadır (50). Sıcak stresi, serbest radikallerin artmasına (51) ve buna bağlı oksidatif strese neden olduğundan dolayı hayvanlara önemli bir antioksidan olan C vitamininin ekstra olarak verilmesi yararlı olmaktadır (52). C vitamini yanında Selenyum (Se) ve E vitamini de antioksidan sistem için önemlidir. Rasyonda Vitamin E ve Se'un miktarının artırılmasının, sıcak stresine bağlı bağırsak bariyeri bütünlüğünde oluşabilecek olumsuz etkileri azaltılabileceğini bildirmiştir (53). Niasin hayvanlarda deri altında vazodilatör görevi yaparak sıcak stresinin etkilerini azaltır (38). Korunmuş olarak verilen niasin plazma niasin miktarını artırırken, sıcaklığın arttığı dönemde buharlaşma yoluyla sıcaklığın dağılımını artırarak hayvanlarda vücut ve rektal ısının ayarlanmasında önemli rol oynar (54). Krom; glikoz, lipit ve protein metabolizması üzerinde etkili bir mikro besindir. Sıcak stresi sırasında glikoz kullanımının artmasından dolayı rasyona eklenen krom sıcak stresinin olumsuz etkilerini azaltabilir. Sıcak stresi altındaki ineklerin rasyonuna takviye edilen kromun laktasyon başlangıcında, canlı ağırlık kaybı, süt üretimi ve gebe kalma oranında iyileşmeler sağladığı bildirilmiştir (55).

3.6. Yem katkı maddeleri

Maya kültürü ve bitki ekstraktlarının rumen metabolizmasında ve vücut sıcaklığının düzenlenmesinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (38). Rasyona yapılan canlı maya takviyesi, besin maddelerinin sindirilebilirliğini ve yemden yararlanmayı artırabilmekte (56) ve rumen pH'sını kontrol edebilmektedir (57). Sıcak stresi altındaki hayvanların rasyonuna ilave edilen mayanın kuru madde tüketiminde, yemden yararlanmada ve laktasyon performansında iyileşmelere neden olduğu bildirilmiştir (58). Shwartz ve ark. (59) eksojen enzimler ve maya kültürü karışımının rasyona eklenmesi halinde, sıcak stresine maruz kalan süt ineklerinin rektal sıcaklığının düştüğü ve bunun da termoregülatör fonksiyonlar üzerinde olumlu bir etki oluşturduğunu gözlemlemiştir.

4. Sonuç

Yıllardır daha fazla süt almak için genetik seleksiyonlara tabi tutulan inekler küresel çapta artan sıcaklıklara karşı

daha hassas hale gelmişlerdir. Sıcak stresi esnasında memeli hayvanlarda homeostatik dengeyi sağlamak adına fiziksel, biyokimyasal ve fizyolojik değişimler şekillenir. Bu değişimlerin amacı sıcaklık dengesinin yeniden düzenlenmesidir. Terleme ve derin solunumla başlayan bu sürecin devamında hayvanlarda kuru madde tüketimi azalır. Kuru madde tüketiminin azalması sonrası hayvanların süt veriminde düşme, immun sistem ve hormonal dengede bozulma ve reproduktif başarısızlıklar şekillenir. Bu durum genel olarak çiftliklerin karlılığını düşürmesi açısından önemlidir. İneklerde şekillenen bu değişimlere uygun olarak düzenlenen beslenme programları hayvanların bu dönemi daha rahat atlmasına yardımcı olur. Rasyonun yüksek düzeyde konsantre yem ve düşük miktarda selüloz içermesinin enerjinin daha verimli kullanılmasından dolayı laktasyondaki ineklerin sıcak stresinden daha az etkilenmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Rasyona ilave edilen korunmuş yağ ve amino asitlerin erken laktasyondaki ineklerin metabolik ısı artışı azalttığı, vitamin ve minerallerin immun sisteme, yem katkı maddelerinin ise bozulan rumen mikro tabiatına olumlu etki ettiği bildirilmiştir.

Kaynaklar

- Kadzere CT, Murphy MR, Silanikove N, Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science* 2002; 77: 59-91. doi: 10.1016/S0301-6226(01)00330-X.
- Roenfeldt S. You can't afford to ignore heat stress. *Dairy Manage* 1998; 35: 6-12.
- Spiers DE. How cows dissipate heat. *Dairy Management Conference June 21-22, 2003*; p: 77.
- Yousef MK. *Stress Physiology in Livestock*. In: Basic Principles. Vol. 1. Boca Raton FL: CRC Press, 1985; pp.1-217.
- Bernabucci U, Lacetera N, Baumgard LH, Rhoads RP, Ronchi B, et al. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal* 2010; 4: 1167-1183. doi: 10.1017/S175173111000090X.
- Samal L. Heat stress in dairy cows-reproductive problems and control measures. *International Journal of Livestock Research* 2013; 3: 14-23.
- Akari CT, Nakamura RM, Kam LWG, Clarke N. The effect of level of lactation diurnal temperature patterns of dairy cattle in hot environments. *Journal of Dairy Science* 1984; 67: 1752-1760.
- Mcdowell RE, Hooven NW, Camoens JK. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. *Journal of Dairy Science* 1976; 59: 965-973.
- Broucek J, Mihina S, Ryba S, Tongel P, Kısac, et al. Effects of high temperatures on milk efficiency in dairy cows. *Czech Journal Animal Science* 2006; 51: 93-101.
- Moran J. *Tropical dairy farming: Feeding management for small holder dairy farmers in the humid tropics*. Csiro publishing, 2005; pp. 312.
- Silanikove N. The struggle to maintain hydration osmoregulation in animals experiencing severe dehydration and rapid rehydration: the story of ruminants. *Experimental Physiology* 1994; 79: 281-300. doi: 10.1113/expphysiol.1994.sp003764.
- Smith JF, Bradford BJ, Harner JP, Ito K, von Keyserlingk M, et al. Effect of cross ventilation with or without evaporative pads on core body temperature and resting time of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 2016; 99: 1495-1500. doi: 10.3168/jds.2015-9624.
- Galindo F, Broom DM. The relationships between social behavior of dairy cows and the occurrence of lameness in three herds. *Research in Veterinary Science* 2000; 69: 75-79. doi: 10.1053/rvsc.2000.0391.
- Cook NB, Mentink RL, Bennett TB, Burgi K. The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2007; 90: 1674-1682. doi: 10.3168/jds.2006-634.
- Bach A, Valls N, Solans A, Torrent T. Associations between nondietary factors and dairy herd performance. *Journal of Dairy Science* 2008; 91: 3259-3267. doi: 10.3168/jds.2008-1030.
- Johnson HD. Depressed chemical thermogenesis and hormonal functions in heat. In: *Environmental Physiology: Aging, Heat, and Altitude*. Elsevier / North Holland, New York 1980; Pp. 3-9.
- Atrian P, Shahryar HA. Heat stress in dairy cows (a review). *Research in Zoology* 2012; 2: 31-37. doi: 10.5923/j.zoology.20120204.03.
- Murphy MR, Davis CL, McCoy GC. Factors affecting water consumption by Holstein cows in early lactation. *Journal of Dairy Science* 1982; 66: 35-38.
- Macfarlane WV, Howard B. Comparative water and energy economy of wild and domestic mammals. *Symposia of the Zoological Society of London* 1972; 31: 261-296.
- Baile CA, Forbes JM. Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants. *Physiological Reviews* 1974; 54: 160.
- Rhoads RP, Baumgard LH, Suagee JK, Sanders SR. Nutritional interventions to alleviate the negative consequences of heat stress. *Advances in Nutrition* 2013; 4: 267-276. doi: 10.3945/an.112.003376.
- Lacetera N, Bernabucci U, Ronchi B, Nardone A. Body condition score, metabolic status and milk production of early lactating dairy cows exposed to warm environment. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale* 1996; 90(1): 43-55.
- Hall MB. Heat stress alters ruminal fermentation and digesta characteristics, and behavior in lactating dairy cattle. In: *Proc. 11th Int. Symp. Rumin. Physiol. Wageningen, Netherlands. August, 2009*; p: 204.
- Silanikove N. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. *Livestock Production Science* 1992; 30: 175-194.
- Bouraoui R, Lahmar M, Majdoub A, Djemali M, Belyea R. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research* 2002; 51: 479-491. doi: 10.1051/animres:2002036.
- Wheelock JB, Rhoads RP, Van Baale MJ, Sanders SR, Baumgard LH. Effect of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2010; 93: 644-655. doi: 10.3168/jds.2009-2295.
- West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2003; 86(6): 2131-2144. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X.
- Nardone A, Ronchi B, Lacetera N, Bernabucci U. Climatic effects on productive traits in livestock. *Veterinary Research Communications* 2006; 30: 75-81. doi: 10.1007/s11259-006-0016-x.
- Singh M, Chaudhari BK, Singh JK, Singh AK, Maurya PK. Effects of thermal load on buffalo reproductive performance during summer season. *Journal of Biological Sciences* 2013; 1: 1-8.

30. Hein KG, Allrich RD. Influence of exogenous adrenocorticotrophic hormone on estrous behavior in cattle. *Journal of Dairy Science* 1992; 70: 243-247.
31. Cavestany D, El-Whishy AB, Foot RH. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 1985; 68: 1471-1478
32. Amundson JL, Mader TL, Rasby RJ, Hu QS. Environmental effects on pregnancy rate in beef cattle. *Journal of Dairy Science* 2006; 84: 3415-3420. doi: 10.2527/jas.2005-611.
33. Polsky L, Von Keyserlingk MA. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *Journal of Dairy Science* 2017; 100: 8645-8657. doi: 10.3168/jds.2017-12651.
34. Yavuz HM, Biricik H. Süt sığırlarının sıcak stresinde beslenmesi. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009; 28: 1-7.
35. Berman A. Invited review: are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 2147-2158. doi: 10.3168/jds.2010-3962.
36. Stermer RA, Brasington CF, Coppock CE, Lanham JK, Milam KZ. Effect of drinking water temperature on heat stress of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1986; 69: 546-551. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(86)80436-2.
37. Milam KZ, Coppock CE, West JW, Lanham JK, Nave DH, et al. Effects of drinking water temperature on production responses in lactating Holstein cows in summer. *Journal of Dairy Science* 1986; 69: 1013-1019.
38. Conte G, Ciampolini R, Cassandro M, Lasagna E, Calamari L, et al. Feeding and nutrition management of heat-stressed dairy ruminants. *Italian Journal of Animal Science* 2018; 17(3): 604-620. doi: 10.1080/1828051X.2017.1404944.
39. Reynolds CK, Tyrrell HF, Reynolds PJ. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. *Journal of Nutrition* 1991; 121: 994-1003.
40. West JW, Hill GM, Mandebvu P, Fernandez JM, Mullinix BG. Effects of dietary fiber on intake, milk yield, and digestion by lactating dairy cows during cool or hot, humid weather. *Journal of Dairy Science* 1999; 82: 2455-2465. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75497-4.
41. Kanjanaputhipong J, Homwong N, Buatong N. Effects of prepartum roughage neutral detergent fiber levels on periparturient dry matter intake, metabolism, and lactation in heat-stressed dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2010; 93: 2589-2597. doi: 10.3168/jds.2009-2424.
42. Kamal TH, Johnson HD. Whole body 40K loss as a predictor of heat tolerance in cattle. *Journal of Dairy Science* 1970; 53: 1734-1738.
43. Huber JT, Higginbotham G, Gomez-Alarcon RA, Taylor RB, Chen KH, et al. Heat stress interactions with protein, supplemental fat, and fungal cultures. *Journal of Dairy Science* 1994; 77: 2080-2090.
44. Lobley CG, Connell A, Buchan V. Administration of testosterone to wether lambs: effect on protein and energy metabolism and growth hormone status. *Journal of Endocrinology* 1987; 115: 439-445.
45. Hahn GL. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *Journal of Animal Science* 1999; 77(Suppl. 2): 10-20.
46. Knapp M, Grummer RR. Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. *Journal of Dairy Science* 1991; 74: 2573-2579.
47. Kronfeld DS, Donoghue S, Naylor JM, Johnson K, Bradley CA. Metabolic effects of feeding protected tallow to dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1980; 63: 545-552.
48. Palmquist DL, Jenkins TC. Fat in lactation rations: review. *Journal of Dairy Science* 1980; 63: 1-14.
49. Lin H, Jiao HC, Buyse J, Decuypere E. Strategies for preventing heat stress in poultry. *World's Poultry Science Journal* 2006; 62: 71-86.
50. Sordillo LM, Shafer-Weaver K, Derosa D. Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science* 1997; 80: 1851-1865.
51. Calamari L, Maiani MG, Amendola F, Lombardi G. On some aspects of the oxidative status and on antioxidants of dairy cows during summer. *Proceedings of the A.S.P.A. XIII Congress*; Jun 21-24; Piacenza; Ed. Franco Angeli, Milano, Italy, 1999; p: 449-451.
52. Bernabucci U, Lacetera N, Ronchi B, Nardone A. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. *Animal Research* 2002; 51: 25-33. doi:10.1051/animres:2002006.
53. Liu F, Cottrell JJ, Furness JB, Rivera LR, Kelly FW. Selenium and Vitamin E together improve intestinal epithelial barrier function and alleviate oxidative stress in heat-stressed pigs. *Experimental Physiology* 2016; 101: 801-810. doi: 10.1113/EP085746.
54. Zimbelman RB, Baumgard LH, Collier RJ. Effects of encapsulated niacin on evaporative heat loss and body temperature in moderately heat-stressed lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2010; 93: 2387-2394. doi: 10.3168/jds.2009-2557.
55. Mirzaei M, Ghorbani GR, Khorvash M, Rahmani HR, Nikkha A. Chromium improves production and alters metabolism of early lactation cows in summer. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2011; 95: 81-89. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01007.x.
56. Piva G, Belladonna S, Fusconi G, Sicbaldi F. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. *Journal of Dairy Science* 1993; 76: 2717-2722.
57. Bach A, Iglesias C, Devant M. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. *Animal Feed and Science Technology* 2007; 136: 146-153. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.09.011.
58. Bruno RG, Rutigliano SHM, Cerri RL, Robinson PH, Santos JEP. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Animal Feed Science and Technology* 2009; 150: 175-186. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2008.09.001.
59. Shwartz G, Rhoads ML, Dawson KA, Vanbaale MJ, Rhoads RP. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2009; 92: 935-942. doi: 10.3168/jds.2008-1496.



Mucizevi Bitki Kenevir'in (*Cannabis sativa* L.) Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Nurcan DOĞAN¹, Cemhan DOĞAN¹

¹ Yozgat Bozok Üniversitesi, Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Yozgat/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 21.08.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 06.09.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Doğan N, Doğan C. Mucizevi Bitki Kenevir'in (*Cannabis sativa* L.) Gıda Endüstrisinde Kullanımı. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2): 47-56.

Özet: Kenevir (*Cannabis sativa* L.), tarımı yapılan en eski tahıllardan biri olmasına rağmen içerdiği psikoaktif maddeden dolayı esrar olarak kullanımı nedeniyle 20. yüzyılda kısıtlanmalara maruz kalmıştır. Ancak son yıllarda kenevir tohumu üretimi ve tüketimi, içermiş olduğu primer/sekonder bileşenlerin fonksiyonel faydaları, hakkındaki bilimsel çalışmaların hız kazanması ve uygulanan ülke politikalarıyla yükselme eğilimine girmiştir. Buna ek olarak kenevirin gıda-gıda bileşeni olarak kullanımı da son yıllarda yaygınlaşmıştır. Bu nedenle, bu çalışma, bilimdeki son gelişmeler ışığında kenevir tohumunun primer ve sekonder metabolitlerini ve gıda endüstrisinde katma değerli gıda ürünlerine işlenmesi ve çeşitli faydaları hakkındaki araştırmaları içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Endüstriyel kenevir, Kenevir menşeli gıdalar, İşlevsellik, Biyoaktif etkiler

Use of the Miraculous Herb Hemp (*Cannabis sativa* L.) in the Food Industry

Abstract: Although cannabis (*Cannabis sativa* L.) is one of the oldest cultivated cereals, it was subject to restrictions in the 20th century due to its use as marijuana for the psychotropic substance. However, in recent years, the production and consumption of cannabis seeds has tended to increase with the acceleration of scientific studies on the functional benefits of the primary / secondary components of this seed and the applied country policies. In addition, the use of hemp as a food-food component has become widespread in recent years. Therefore, this review includes research on primary and secondary metabolites of cannabis seeds and their various benefits and processing into value-added food products in the food industry in the light of the latest developments in science.

Keywords: Industrial hemp, Hemp food, Functionality, Bioactive effects

1. Giriş

Kenevir tarih boyunca gıda ve tekstil alanları başta olmak üzere endüstride, aynı zamanda çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi faydaları için de kullanılan çok yönlü tek yıllık otsu bir bitkidir (1). Kenevirin (*Cannabis sativa* L.) 1970'li yıllara kadar yalnızca bir türü olduğunu bilmekle birlikte, kısaca uyuşturucu tipte olan ve olmayan olarak kategorize ediliyordu. Ancak sonrasında içermiş olduğu psikoaktif bir bileşen tetra-hidrokanabinol (THC) miktarına göre genel olarak sınıflandırılmış olup, nispeten yüksek miktarlarda THC içeren tür *Cannabis sativa* subsp. *indica* (Hint keneviri), düşük miktarlarda THC içeren ise *Cannabis sativa* subsp. *sativa* (kültür keneviri) olarak adlandırılmıştır (2). Kenevir, gıdalarda sıklıkla tohumu ve/veya türevleri olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kenevir ekstraktının çay, kahve, pizza, kahvaltılık gevrek, çikolata ve süt gibi gıda ürünlerine infüze edilerek kullanımı öngörülmektedir (3).

Kenevir tohumu, insanın besinsel ihtiyacını karşılamak için yeterli miktarda ve oranda temel amino asitleri ve yağ asitlerini içeren zengin besin değerine sahiptir (4). Anadolu topraklarında MÖ 1500 yılına ait kenevir menşeli buluntulara rastlanıldığı bilinmektedir (5). Bu durum

Anadolu topraklarında kenevir tarımının uzun yıllar önce yapıldığının en önemli göstergelerinden biri olmakla birlikte son yıllarda tarımı azalmış ve neredeyse unutulmaya yüz tutmuştur. Bunun en önemli sebeplerinden biri yasa dışı madde üretiminde kullanılan ve yüksek miktarda THC içeren türün *indica* olduğu bilinmekle birlikte alt türlerin melezlenmesi ile elde edilen güçlü etkili kannabis (high-potency cannabis; skunk) çeşidinde de yine yüksek miktarda THC bulunabilmesidir. Dolayısıyla bu durum mevcut çeşitlerin hangi alt türe ait olduğunun belirlenmesini güçleştirmektedir (6). Bu sebeple üretilecek kenevirlerdeki THC miktarları yasal olarak sınırlandırılmıştır ve bu sınırlarda psikoaktif özellik göstermediği kabul edilmektedir. ABD'de tüketilen herhangi bir nihai ürün, ABD yasalarına göre %0.3 den fazla THC içermemelidir (7). Avrupa birliğinde ise kuru bitki materyalinde THC Konsantrasyonu %0.2 den fazla içermeyecek şekilde sınırlandırılmıştır (8). THC oranı düşük kenevir ıslah tohumu çalışmalarında yaşanan son 20 yıldaki gelişmeler, gıdalarda kullanım olanaklarını da gündeme taşımıştır. Kenevirin ülkemizde gıda olarak geleneksel kullanım alanlarına bakıldığında; çerez olarak tüketilen ve halk arasında çedene veya kavurğa ön plana çıkmaktadır.

Hindistan, Rusya ve Doğu Avrupa da kavrulmuş kenevir tohumları hala daha atıştırılabilir olarak satılmaktadır (4). Ayrıca Baltık devletlerinde de kenevir tohumu kullanılarak üretilen çeşitli geleneksel gıdaların olduğu bilinmektedir (9). Geleneksel ürünler hariç kenevir tohumu genellikle kenevir bitkisini yetiştirmek için kullanılmıştır. Ancak Avrupa'da artık keneviri sadece tohumu için üreten üreticiler çoğalmıştır. Gıda pazarının talebi doğrultusunda kenevir tohumu üretimi 2010-2013 yılları arasında %92'lik büyüme payı ile 6000 tondan 11.500 tona yükselmiştir (10). Dünya'da kenevir ekim alanları 2013 yılından itibaren kenevirin yeni nesil kullanım alanlarının keşfi ile artış göstermiştir. 2017 yılında yapılan bir araştırma sonucuna göre; yenilebilir kenevir ürünleri pazarının 8,4 milyar dolar olduğunu ve 2018-2022 döneminde %25 oranında büyüyecek tahmini 25.7 milyar dolara ulaşacağı öngörülmektedir. Ayrıca bu orandaki %60'lık payın infüze gıda sektörüne ait olacağı düşünülmektedir (3). Buna verilecek en güzel örneklerden biri öncelikle ilaç endüstrisinin dikkatini çeken bir fitokannabinoid olan kannabidiol (CBD) olmuştur. Kenevirin sağlık üzerine olan olumlu etkileri bu amaçla üretilebilecek gıda ürünlerini akla getirmiştir. Ancak bu gıda ürünleri de yasal izinlere tabi olduğundan üretiminde sıkıntılar doğurmaktadır. Ülkelerin THC içeriği yüksek tohum üretimindeki kısıtlamalar, THC içeriği düşük tohumlara ve/veya hiç THC içermeyen tohumlara olan ilgiyi arttırmıştır.

Kannabidiol yakın bir zamana kadar kenevir yasaklarının gölgesinde kalmış ve değerlendirilememiştir. Ancak bilim dünyasındaki gelişmeler ışığında gıda ürünlerine ilave etmek için umut vaat etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde fitokannabinoidlerin süt, çay, kahve, meyve suları ve mineralli sulara infüzyonu ile edilen ürünlerin satışı gün geçtikçe artmaktadır. Ayrıca kenevir proteini içeren kahveler, çaylar ve sodalarda pazardaki yerini almaktadır. Kannabidiol infüze edilmiş ürünler, THC gibi metabolize edildiklerinde ana kannabinoid moleküllerinden biri olan delta-9-tetra-hidrokanabinol, 11-hydroxy-THC (sarhoşluk veren) ye dönüşmezler. Ancak CBD nin üretim işlemleri sırasında sıcaklık artışına bağlı olarak dekarboksilasyon işlemine dikkat edilmelidir. Bu nedenle sıvı gıdaların CBD ile infüze edilmesinde dekarboksile edilmemiş olanı ile formülize edilmesi önem arz etmektedir. Kabuğu soyulmuş kenevir tohumları, kenevir tohumu proteini ve kenevir tohumu yağı için ise durum farklıdır. Bunlar GRAS (Generally Recognized as Safe; Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen) olarak kabul edildiklerinden ve bileşenlerin hastalığı tedavi ettiğine dair herhangi bir iddiada bulunulmadığı sürece herhangi bir ek onay gerekmeden pazarlanabilirler (3). Uluslararası düzeyde son 20 yılda, endüstriyel kenevir tohumu ve nutrasötiklerinin gıda, içecek, fonksiyonel gıda bileşeni, alternatif protein kaynağı, yağ ve kannabidiol menşeli ürünlerin üretiminde artış kaydedilmiştir (1).

Gıda endüstrisinde kenevir tohumunun kullanımına bakıldığında sahip olduğu primer ve sekonder metabolitlerin etkisi dikkat çekicidir. Dolayısıyla bu çalışma, kenevir tohumunun primer ve sekonder metabolitleri üzerine yapılan bilimsel çalışmaları, sağlık beyanlarını ve gıda endüstrisinde hangi teknolojilerde/ürünlerde kullanılabildiği ile ilgili bilgileri içermektedir.

2. Kenevirin primer ve sekonder metabolitleri

Kenevirin bileşimi; kullanılan kenevir tohumu, ekolojik koşullar, yetiştirme şartları, hasat zamanı ve depolama koşullarına bağlı olarak değişmektedir (11). Bu amaçla ihtiyaca uygun kenevir tohumu çeşidi kullanmak randıman açısından son derece önemlidir. Aminoasitler, yağ asitleri, steroidler, diyet lifleri ve vitaminler primer metabolitler grubunda yer alırken kannabinoidler, flavonoidler, stilbenoidler, terpenoidler, lignanlar ve alkaloidler ise sekonder metabolitler grubunda sınıflandırılmaktadır (4, 12).

2.1. Primer metabolitler

Kenevir tohumundan üretilen kenevir yağı, kenevir unu, kenevir protein tozu ve kenevir sütünün sağlıklı yağ asitleri bileşimi, yüksek protein içeriği ve aminoasit profili ile zengin vitamin-mineral kombinasyonu sergilemesi ile aynı zamanda duyuşal özelliklerinin de yüksek olması dolayısıyla gıda olarak kullanımı ve/veya gıda proseslerinde değerlendirilmesi trendi yükselişe geçmiştir. Kenevir tohumunu ortalama olarak %35.5 yağ, %24.8 protein, %27.6 civarı diyet lifi ki bunun %5.4 sindirilebilir ve % 22.2 si de sindirilemeyen diyet lifi oluşturmaktadır. Ayrıca %6.5 nem ve %5.6 kül ihtiva etmektedir (4). Yüksek vitamin içeriği (A, C, E, B1, B2) mineraller (fosfor, magnezyum, potasyum, kalsiyum, demir, sodyum) ve β -karoten içeriğinin yüksek olması ile karakterize edilirler (4).

2.1.1. Kenevir yağı

Kenevir tohumu %80 in üstünde çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA; Polyunsaturated Fatty Acids) içermekte olup, esansiyel yağ asitleri olan linoleik asit (18:2 omega-6) ve alfa-linolenik asit (18:3 omega-3) açısından son derece zengindir. Kenevir yağında da bulunan PUFA'nın yaraları iyileştirdiği ve bağışıklığı arttırdığı bilinmektedir (13). Kenevir yağındaki linolenik asit, anti-inflamatuar, antihipertansiyon, anti-vazokonstriktif, anti-kanser ve anti-trombotik etkileri ile birlikte, düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL; Low Density Lipoproteins) azaltır, metabolik hızlanmaya bağlı olarak yağ yakımını artırır (14). Kenevir tohumunda Ω -6/ Ω -3 oranı 2:1 ile 3:1 oranındadır ki bu da insan sağlığı için optimal olarak kabul edilir (4, 15). Buna ek olarak, iki esansiyel aminoasitin biyolojik metabolitleri olan gama-linolenik asit (18:3 Ω -6; GLA) ve stearidonik asit (18:4 Ω -3; SDA), kenevir tohumu yağında bulunmaktadır. Omega-6/ Ω -3 yağ asitleri oranının olabildiğince düşük olması yüksek prevalanslı birçok kronik hastalık riskinin

azaltılmasında arzu edilmektedir (16). Kenevir tohumu yağının anti-inflamatuar profili sayesinde kenevir yağına içeren gıda ürünlerinin de patolojik kronik inflamasyonunu faydalı bir şekilde etkileyebileceği düşünülmektedir (17). Ayrıca kenevir tohumu yağının; trombosit agregasyonunu azaltarak kardiyovasküler riski azalttığı (16) ve atopik dermatite karşı etkili olduğu (4) bilinmektedir. Yine GLA'nın destek olarak hastalara verilmesinin osteoporoz ve diyabet üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla henüz direkt olarak kanıt olmasa da, kenevir tohumunda da bulunan GLA ile zenginleştirilmiş gıdaların osteoporoz riskini azaltmada veya geciktirmede ve diyabet üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir (18). Kenevir tohum yağı ayrıca yüksek düzeyde tokoferol içerir. α -, β -, γ - ve δ -tokoferol içeriğinin sırasıyla 100 g yağda sırasıyla 3.22, 0.81, 73.38 ve 2.87 mg olarak tespit edilmiştir (19). Tokoferoller iyi antioksidan kaynağı olup, kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalık riskini azalttığı bilinmektedir (20). Rezapour-Firouzi ve Arefhosseini (21), kenevir tohumu yağı ve çuha çiçeği yağını (9:1) birlikte takviye edilen alan MS hastalarında ve karaciğer enzimlerinin aktivitesinde iyileşme bildirmiştir.

Kenevirin gıdalarda kullanımında dikkat edilecek nokta, lifi için üretilen kenevir olsa bile, kenevir tohum yağı ilave edilerek üretilen gıda ürünlerindeki THC miktarıdır ki bazı gıdalarda analizlenebilir oranlarda çıkabilmektedir. Kenevir içeren gıda maddelerinde THC'nin varlığı, sadece psikoaktif sorununu değil aynı zamanda uyuşturucu testlerinin pozitif sonuçlarının geçerliliği konusunda da endişelere yol açmaktadır (22). Ancak tüm bunların yanında günümüz kan ve idrarda çıkan psikoaktif maddenin kaynağının kenevir içeren gıdalardan kaynaklandığının tespiti mümkündür (23).

2.1.2. Kenevir proteini

Yağ ekstraksiyonundan sonraki yan ürün olan kenevir keki veya küspesi yüksek kaliteli proteinleri bünyesinde barındırmaktadır. Kenevir tohumu proteini, mükemmel sindirilebilirliği ve arzu edilen temel amino asit bileşimi ile bilinmektedir (24). Kenevir kekindeki protein içeriği, kullanılan kenevir çeşidine ve yağ ekstraksiyon yöntemine (soğuk presleme veya solvent) bağlı olarak %30-50/kuru madde arasında değişmektedir (25). Sahip olunan protein zenginliği araştırmacılar tarafından da ilgi görmüş ve 1960-1980 yılları arasında yapılan araştırma (scopus) sayısı sadece 5 iken 2010-2018 yılları arasında bu sayı 270'e yükselmiştir. Çeşitli gıdaların üretim, depolanması, hazırlanması ve tüketimi sırasında proteinlerin fonksiyonel özelliklerinden yararlanılmaktadır. Kenevir proteini kaynaklı biyoaktif peptitler; köpürme, emülsifiye etme, jelleştirme ve film oluşturma yetenekleri gibi teknolojik faydaları için tercih edilmektedir. Öte yandan, gıda endüstrisinde içecekler, fonksiyonel bileşenler, besin takviyeleri gibi birçok ürün kenevir tohumu proteinleri kullanılarak geliştirilmektedir (26). Albümin ve globülin

(edestin) kenevir tohumunda bulunan iki ana proteindir ve her ikisi de insanoğlu için elzem öğelerdir (4). Edestin toplam protein içeriğinin %60-%80'ini oluştururken geri kalanının yaklaşık %25'lik kısmı ise albümin kaynaklıdır (24, 27). Albüminler globülinlerden daha yüksek çözünürlük ve köpürme kapasitesi sergilerken, emülsiyon oluşturma yeteneğinde hiçbir fark bulunmamaktadır(25). Kenevirin içermiş olduğu proteinler hacimce %18 civarında kükürt amino asitleri içerir ki kükürten zengin proteinin tripsine karşı hiçbir inhibitör aktivitesi olmamakla birlikte gıdaların besleyiciliğini formüle etmek için zengin bir tiyol kaynağı olarak hizmet edebilir. Proteince zengin oldukları bilinen soya fasulyesi, bezelye ve fasulye gibi çeşitli bitkisel gıdalardan elde edilen baklagil proteinleri kükürt bakımından yetersiz olduğundan, kenevir proteinlerini daha değerli kılmaktadır (28).

Kenevir proteininden maksimum düzeyde faydalanabilmek için kenevir protein keki, kenevir protein konsantresi ve kenevir protein izolatu gibi ürünler geliştirilmiştir. Kenevir protein keki, kenevir tohumundan yağı alındıktan sonra kalan posanın parçalanması ile elde edilir ve yaklaşık olarak %37 oranında protein içerir. Kenevir protein konsantresi, yağı alınmış kenevir tohumundan protein olmayan bileşenlerin çoğunun uzaklaştırılmasıyla kuru ağırlık bazında %74'e kadar protein miktarı artırılabilir (29). Kenevir protein izolatu ise protein olmayan bileşiklerin farklı yöntemlerle ekstrakte edilmesi ve protein içeriğinin %90'dan fazla zenginleştirilmesi ile elde edilir. Bu saf ve zenginleştirilmiş kenevir formu, protein olmayan bileşenlerin istenmediği ve gıda proseslerinde proteince zenginleştirme ihtiyacını karşılamaya yönelik olarak üretilmektedir (30, 31). Kenevir proteini, dengeli bir amino asit profiline sahiptir. Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation; FAO)/Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation; WHO) tarafından önerilen 2 ila 5 yaşındaki çocukların gereksinimlerini karşılamak için yeterlidir (26). Kenevir tohumundaki arginin içeriği (%12) de oldukça yüksektir (32). Arginin (Arg)/Lizin (Lys) oranı kolesterolemik ve anterojenik etkilerin bir belirleyicisidir. Kardiyovasküler sağlığı destekleyen gıdaların formülasyonu için bu değer olabildiğince yüksek olması istenmektedir (33). Kenevir proteininin Arg/Lys oranı %3.0-5.5 (h/h) olarak bulunurken; soya protein izolatu %1.41 veya kazein %0.46 olarak belirlenmiştir (26). Bu durum kenevir proteini besleyici ve biyoaktif olarak değerli kılmaktadır. Besleyici değerlerinin yanı sıra in vitro ve in vivo yapılmış çalışmalarda kenevir protein peptitlerinin; antihipertansif (34), antikanser (35) antimikrobiyal (36), renin-angiotensin sisteminin inhibitörü (37), immünomodülatör (38), hipokolesterolemik etki (39), serum glikoz regülatörü (40) ve antioksidatif (24, 41) özellikler sergilediği tespit edilmiştir.

Kenevir proteinin fonksiyonallitesi

Proteinler besin değerlerinin yanı sıra sağladığı birçok teknolojik faydaları içinde sıklıkla tercih edilmektedir. Proteinlerin sahip olduğu fonksiyonel özelliklerden yararlanabilmenin başlıca koşulu çözünebilir olmalarıdır. Bir protein çözünlüğü işlenmiş gıdalarda; jelleşme, köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi, yağ bağlama, su tutma kapasitesi ve emülsifikasyon gibi koloidal yapı gelişimi üzerinde de spesifik olarak rol oynadığından son derece önemlidir.

❖ Çözünürlük

Yaklaşık nötr pH'da, kenevir protein izolatu genellikle zayıf çözünlüğe sahiptir. Kenevirin albümin fraksiyonunun protein çözünlüğü, pH 3'de %57, pH 8.0'de ise %84 iken globulin fraksiyonunununki ise pH 3'de %20, pH 8'de %50 olarak belirlenmiştir (42). Membran ultrafiltrasyon yöntemi ile üretilmiş kenevir konsantrisinde çözünlük pH 4.0'de %76'ya kadar arttırılmıştır ki bu değer aynı pH da kenevir protein kekinde %75'dur (29). Bununla birlikte, pH 8.0'den büyük olduğunda, protein çözünlüğü %65 ila %90 arasında artmıştır (24). Bu durum kenevir proteininin alkali çözümlü bir protein türü olduğunu göstermektedir. Bitkisel proteinlerin çözünlüğünü arttırmak için birçok araştırma bulunmakla birlikte, kenevir protein izolatu % 85'lik protein çözünlüğü ile mercimek ve kinoa izolatından daha yüksektir (43, 44).

❖ Sindirim

Kenevir proteinlerinin sindirim derecesi, proteinlerle ilişkili enzimlere bağlıdır. House ve ark. (45) tarafından yapılan bütün kenevir tohumu, kabuğu soyulmuş kenevir tohumu ve yağı alınmış kenevir kekinin protein sindirilebilirliğinin değerlendirildiği çalışmada; kabuğu soyulmuş kenevir tohumunun sindirilebilirliği %90.8-%97.5 olarak bulunurken bu değer, kazein ile (%97.6) karşılaştırılabilir nitelikte olup kabuğu soyulduktan sonra sindirilebilirliğinin arttığı belirtilmiştir. Kenevir protein izolatu ve soya protein izolatının sindirilebilirliğinin belirlendiği çalışmada; kenevirin sindirilebilirliği %88 ila %91 arasında, soyanın ki ise %71 olarak belirlenmiş olup kenevir izolatının insan tüketimi için verimli bir protein kaynağı olduğu vurgulanmıştır (46). Termal denatürasyona karşı kararlılık, proteinlerin önemli bir kalite özelliğidir. Aynı ekstraksiyonu ile (alkali ve asit) üretilen kenevir protein izolatının termal denatürasyonu keten tohumu proteininden daha yüksek, ancak kanola proteininden daha düşük olarak tespit edilmiştir (30).

❖ Su bağlama

Bir proteinin değeri ve gıda sistemlerindeki performansı suyu bağlama yeteneği ile ilişkilidir (26). Yapılan bir çalışmada kenevir unu proteinlerinin su bağlama kapasitesi bakla, karabuğday, bezelye ve buğdaydan daha yüksek

olarak tespit edilmiştir (47). Ayrıca daha az hidrofilik grupların kaybı söz konusu olduğundan enzimatik parçalanma ile hazırlanan kenevir protein konsantrisinin su bağlama kapasitesi, kenevir protein izolatından daha yüksek bulunmuştur (29). Son yıllarda bitkisel kaynaklı protein jelleri, vejeteryan/vegan beslenme, nispeten hayvansal kaynaklara göre ucuz oluşu ve hayvansal kaynaklı ürünlerin sürdürülebilirliğindeki problemler nedeniyle birçok gıda ürününün yapısal özelliklerini geliştirmek için kullanılmaktadır. Ancak üründe istenen bir fonksiyonel özelliği sağlamak için kullanılacak bitkisel kaynağın menşei ve bununla beraber uygulanacak parametreler ekstraksiyon yöntemi veya diğer işlemler (pH, sıcaklık, basınç, tuz) ile uyumlu olmalıdır.

❖ Jel oluşturma

Proteinlerin jel oluşturma ile üç boyutlu yapının içinde şeker, aroma ve diğer gıda bileşenlerinin tutulması özelliğinden, yeni gıda formülasyonlarının geliştirilmesinde sıklıkla yararlanılmaktadır (48). Malomo ve ark. (25) tarafından yapılan çalışmada kenevir proteinin jelleşmesi için uygulanan izolasyon yöntemine göre protein konsantrasyonunun farklı olabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca bu farklılıkta kenevir tohumu çeşidinden etkilenen farklı protein bileşimleri ile ilişkili olabileceği de düşünülmektedir. Kenevir kekinin jelleşmesi için gerekli protein konsantrasyonunun kenevir izolatından daha düşük olduğunun ve bunun gerekçesinin de kenevir kekinde bulunan şeker, polisakkarit gibi jelleşmeye katkı sağlayacak protein olmayan materyallerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Genel olarak, kenevir proteini hazırlamada kullanılan izolasyon yöntemleri jelleşme potansiyelini büyük ölçüde etkilemekte olup, miselizasyon yöntemi, alkali çözündürme-izoelektrik çökeltme işleminin aksine daha ince yapıda jel yapısı oluşturmaktadır (49).

❖ Köpürme

Proteinlerin köpük oluşturma fonksiyonel özelliği çırpılmış pasta süslemeleri, dondurma, kekler, tatlılar gibi geniş bir yelpazede kullanılmaktadır (50). Yumurta beyazı ve süt proteinleri köpük, emülsiyon, jel oluşturma ve su tutma gibi birçok fonksiyonelliği ile gıda uygulamalarında en sık kullanılan proteinler olmakla birlikte gıda sanayiinin daha ucuz protein kaynaklarına olan taleplerindeki artış ile bitkisel kaynaklı protein arayışı, hububat, baklagil ve yağlı tohum proteinleri gibi bitkisel proteinlere olan ilgiyi arttırmıştır. Malomo ve Aluko (29) tarafından yapılan çalışmada; 20-60 mg/mL protein konsantrasyonlarında ve pH 3-9 aralığında membran ultrafiltrasyon yöntemi ile üretilmiş kenevir konsantrisinde, protein izolatından daha yüksek köpürme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak köpük stabilitesi, protein izolatında daha yüksek olup bu durumun kenevir konsantrisinin protein içeriğinin düşük oluşu ve protein olmayan maddelerin varlığından

kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü düşük protein yerçekimi kuvvetine karşı daha zayıf ara yüzey zarları oluşturur, böylece daha yüksek bir köpük drenajına neden olur.

❖ Yağ tutma

Proteinler önemli yağ tutucu ajanlar olup, protein zincirinin polar olmayan kısımlar lipid-protein interaksiyonlarını sağlar ve myofibriller proteinlerin üç boyutlu matrisi yağ tutma özelliği gösterir (48). Yapılan çalışmada kenevir protein konsantrisi ile izolatının yağ bağlama kapasitesi birbirine yakın olup, kenevir kekinden daha yüksek çıkmıştır. Bunun sebebi olarak da protein içeriğinin daha yüksek olması gösterilmiştir. Dahası alkali ekstraksiyonunun yağ bağlama kapasitesi, asit ekstraksiyonundan daha yüksektir. Ayrıca alkali ile ekstrakte edilmiş protein izolatının yağ tutma kapasitesi, miselizasyon yöntemine göre daha yüksek çıkmıştır (29, 31). Bunun nedeninin kısmi protein denatürasyonunun sonucunda yüzeyde hidrofobik bileşiklerin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kenevir protein izolatının yağ bağlama kapasitesi soya protein izolatu ile karşılaştırılabilir (24) olarak, keten ve kanola izolatlarından ise önemli ölçüde üstündür (30).

❖ Emülsifikasyon

Malomo ve Aluko (29)'ya göre, kenevir protein konsantrisi 6-15 µm yağ damlacıkları boyutu ile düşük emülsiyon kapasitesi sergilerken, protein keki ve izolatu ise 1 µm'den küçük yağ damlacıkları boyutu ile daha yüksek kapasitede emülsiyon oluşturmuştur. Hatta protein kekinin izolattan daha iyi emülsiyon kapasitesi göstermiştir. Bu durum protein izolatu moleküllerinin daha fazla hidrofobik gruplara sahip olması, protein kekinde ise yüksek düzeyde bulunan çözünmeyen polisakkaritlerin su yerine yağı tercih etmesi ile ilişkilidir (25). Kanola proteinin emülsiyon kapasitesi ile karşılaştırıldığında alkali veya asit ekstraksiyonu-izoelektrik çökelme ile üretilen kenevir protein izolatu ile karşılaştırıldığında yakın emülsiyon kapasitesi sergilerken, emülsiyon stabilitesi daha düşüktür (30).

Kenevir proteini kompakt yapısı nedeniyle diğer birçok bitkisel proteine göre genellikle daha sınırlı endüstriyel uygulamaya sahiptir. Bu nedenle fonksiyonelliği geliştirmeye yönelik çeşitli fiziksel, kimyasal ve enzimatik işlemler, ısı işlem, hidroliz, asilasyon ve pH değişiminin etkisi gibi çalışmalar üzerine yoğunlaşmıştır (26).

2.1.3. Kenevirin diğer besin bileşenleri

Kenevir tohumunun esas besin bileşenleri yağ ve protein olmakla birlikte, içerdiği yüksek diyet lif içeriği, mineral ve vitamin içeriği de azımsanmayacak miktardadır. Lif yerine tahıl olarak üretimde tercih edilen Finola çeşidine ait tüm tohumda karbonhidrat, kül, toplam diyet lifi, çözünür diyet lifi ve çözünmeyen diyet lifi sırasıyla; %27.6, %5.6, %27.6,

%5.4 ve %22.2 yağı alındıktan sonraki tohum kekinde ise sırasıyla %42.6, %7.2, %42.6, %16.4 ve % 26.2 olarak tespit edilmiştir. Yine aynı tohum çeşidinde mg/100 g'daki E, B1, B2 vitaminleri sırayla 90, 0.4 ve 0.1; P, K, Mg, Ca, Fe, Na, Mn, Zn ve Cu mineralleri ise sırasıyla; 1160, 859, 483, 145, 14, 12, 7, 7 ve 2 olarak bulunmuştur. Kenevir tohumundaki tokoferoller (E vitamini) α-tokoferol (5 mg/100 g) ve γ-tokoferol (85 mg/100 g) olarak sınıflandırılmıştır (4).

2.2. Sekonder metabolitler

Kenevir de dahil olmak üzere bitkiler, savunma sistemi mekanizmasını geliştirmek ve yaşam döngüsünü spesifik olarak kontrol edebilmek amacıyla sekonder metabolitlere ihtiyaç duyarlar (12). Kenevirde tanımlanmış 480'den fazla farklı kimyasal sınıfları temsil eden fitokimyasal bileşik tanımlanmıştır (51). Kenevirin sekonder bileşikleri kannabinoidler, flavonoidler, stilbenoidler, terpenoidler, lignanamidler, fenolik amidler ve alkaloidler olup, arasında ise en fazla üzerinde çalışılan ve dikkat çeken bileşik ise kannabinoidlerdir.

2.2.1. Kannabinoidler

Kannabinoidler genel olarak 22 karbonlu olarak bilinirler. Cannabigerol (CBG), Cannabichromene (CBC), Cannabidiol (CBD), Cannabitrilol (CBT), Cannabicyclol (CBL), Cannabielsoin (CBE), Cannabinodiol (CBND), Cannabinol (CBN), Δ8-Tetrahydrocannabinol (Δ8-THC) ve Δ9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC) yapısal tipleri olmak üzere 10 ana bölüme ayrılmıştır (12). Kannabinoidler, yakın bir zamana kadar genellikle psikoaktif aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir (52). Ancak yapılmış olan bilimsel çalışmalar kannabinoidlerin aynı zamanda farmakolojik etkilerinin de yüksek olduğu yönündedir (53). CBD, kenevirde bulunan psikoaktif ve toksik olmayan bir kannabinoid bileşiği olup son zamanlarda biyomedikal ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (1).

2.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler insan beslenmesi ve sağlığı için önemli bileşikler olup antioksidan, anti-alerjenik ve antiproliferatif özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (54). Kenevirin 7 kimyasal bileşiği (izoviteksin, apigenin, naringenin, eriodictyol, luteolin, kaempferol, quercetin) ve bu bileşiklerin metabolik reaksiyonları neticesinde glikozile, prenile veya glikosile edilmiş formları ile meydana gelen 20'den fazla flavonoid içerdiği bilinmektedir (51). 10 adet endüstriyel kenevir çeşidi üzerine yapılan çalışmada, örneklerin ortalama fenolik içeriği 2224 mg/100 g GAE olarak bulunmuştur (55). Teh ve Birch (15) yaptıkları çalışmada kenevir toplam fenolik madde miktarını 188.23 mg/100 g GAE bildirmiştir. Sonuçlar kenevirin aynı zamanda iyi bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir.

2.2.3. Stilbenoidler (Resveratrol)

Stilbenoidler, bitkilerin savunma mekanizmasından sorumlu fenolik bileşiklerdir (56). Stilbenoidler, ayrıca antiinflamatuvar (57), kardiyovasküler koruyucu (58), antioksidan (59) ve antimikrobiyal (60) aktivite göstermektedir. Kenevirde şimdiye kadar bilinen 3,4'-dihydroxy-5-methoxy bibenzyl, 3,3'-dihydroxy-5,4'-dimethoxy bibenzyl, dihydroresveratrol, canniprene, 3,4'-dihydroxy-5,3'-dimethoxy-5'-isoprenyl gibi bileşiklerinde aralarında olduğu 19 adet stilbenoid tanımlanmıştır (61).

2.2.4. Terpenoidler

Terpenoidler, bitkilerde hem birincil hem de ikincil metabolitler üretirler (62). Birincil metabolizmada terpenoidler; fitohormonlar, membran stabilizatörleri, solunum ve fotosentez işlevlerinde görevli iken ikincil metabolizmada iletişim ve bitki savunma mekanizmalarında görevlidirler. Kenevirde 61 monoterpen, 52 seskiterpenoid, 2 triterpen, 1 diterpen ve 4 terpenoid türevi olmak üzere toplam 120 terpenoid tespit edilmiştir (51). Ayrıca bazı kenevir terpenoidlerinin farmakolojik etkileri tespit edilmiştir (63).

2.2.5. Lignan amidler ve fenolik amidler

Kenevirde, N-trans-kumaroiltiramin, N-trans-feruloiltiramin ve N-trans-caffeoyltiramin olarak tanımlanan fenolik amidler ile cannabisin A, -B, -C, -D, -E, -F, -G ve grossamid olarak adlandırılan lignan amidler olmak üzere 11 bileşik bulunmaktadır (64). Fenolik amidler, sitotoksik (65), antiinflamatuvar (66) ve analjezik aktivite (67) göstermektedir. Lignan amidler içinde grossamid, cannabisin D ve -G'nin sitotoksik aktivite göstermektedir (68). Yan ve ark. (69) tarafından kenevir tohumları üzerine yapılan çalışmada cannabisin M, cannabisin N, cannabisin O ve 3,3'-demetil-heliotropamidin olmak üzere 4 yeni lignan amid tespit edilmiştir. Çalışma neticesinde izole edilen bazı bileşiklerin asetilkolinesterazı inhibe ettiği ve yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur.

2.2.6. Alkaloidler

Alkaloidler, bakteri, mantar, hayvan ve bitkilerde bulunan karmaşık ve çeşitli yapılara sahip azotlu bileşiklerdir. Geleneksel olarak bitki alkaloidleri, eski zamanlardan beri öksürük kesici, sakinleştirici ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Şu anda da hali hazırda kodein, brusin, morfin, efedrin ve kinin gibi alkaloidler farmakolojik ilaçların formülasyonunda kullanılmaktadır (70). Kenevirde bilinen 10 alkaloid tespit edilmiştir. Kenevir alkaloidleri protoalkaloidler grubundan; kolin, nörin, L-(+)-izolösinbetain ve muskarin, fenetilaminler grubundan; hordenin, piridinler grubundan; trigonellinden, piperidinler grubundan; piperidinler, pirolidinler grubundan; pirolidinler, Dihidroperifilin tipi poliaminler grubundan ise (+)-

kannabisativin ve anhidrokannabisativin olarak bilinmektedir (12, 61).

3. Kenevir ve yan ürünlerinin gıdalarda uygulanabilirliği

Kenevir proteinin teknolojik faydaları, yüksek besleyici değeri ve uygulandığı gıdalardaki geçerli duyuşsal not almasının bilinmesiyle, farklı teknolojiler ile üretilmiş kenevir tozları, konsantresi, keki, izolatu gibi geliştirilmiş ürünler; unlu mamüller, atıştırılabilir ürünler, içecekler, süt ürünleri, işlenmiş et ürünleri ve daha birçok alanda değerlendirilmiştir. Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan kazein, peynir altı suyu tozu ve soya proteinin aksine yapılan çalışmalar, kenevir proteini kullanılarak üretilen son ürünlerde besin içeriğinin daha yüksek olmasının yanında teknolojik bazı faydalarının da olduğunu göstermiştir (71, 72).

Kenevir kullanımının en fazla araştırma konusu olduğu sektörlerin başında fırıncılık ürünleri gelmektedir. Formülasyona %40'a varan oranda kenevir keki eklenmiş glutensiz krakerlerin kahverengi pirinç ununa kıyasla daha yüksek protein, diyet lif, mineraller ve esansiyel yağ asitleri (Ω -3, Ω -6) içerdiği ve daha düşük karbonhidrat içerdiği tespit edilmiştir. Ayrıca hazırlanan tüm krakerlerde, Ω -6 ve Ω -3 yağ asitlerinin içeriği arasındaki oran 1.7 ile 1.83 arasında mükemmel dengeli bulunmuştur. Krakerlerin formülasyonuna katılan kek oranı arttıkça tekli doymamış yağ asitleri (Monounsaturated Fatty Acids; MUFA) ve PUFA'lar yükselmiştir. Aynı şekilde Ca, Fe, Mn, Mg ve Zn oranlarında periyodik olarak artış kaydedilmiş olup, en yüksek mineral madde olarak K ön plana çıkmıştır (73). Buğday unundan yapılan ekmeğe farklı oranlarda (0/100, 5/95, 10/90 ve 20/80) ilave edilen kenevir kekinin su emilimini, hamur gelişim süresini ekmeğin hacmini, rengini ve ekmeğin yapısal ve dokusal özelliklerini etkilediğini göstermiştir. Kenevir keki ile takviye edilmiş ekmeğe proteinler ile makro ve mikro elementler, özellikle demir minerali artışı ile besin değeri yükselirken, gluten miktarı azalmıştır. Ancak %20 oranından fazla kullanımında hamurun reolojik özelliklerinin azalmasına neden olmuştur. Çalışma sonucunda %20 kenevir unu ile takviye edilmiş 300 gram ekmeğin tüketiminin teorik olarak önerilen günlük demir alımını karşılayabileceği bildirilmiştir (74).

Apostol ve ark. (71) tarafından yapılan çalışma da kenevir keki unu ile zenginleştirilmiş ekmeğelerde protein, diyet lif, doymamış yağ asitleri ve mineral miktarı artarken karbonhidrat içeriği azalmıştır. %10'a varan oranda kullanılan kenevir keki ununun ekmeğin besinsel özelliğini arttırdığı, teknolojik ve duyuşsal yönden ise benzer sonuçlar sergilediği belirlenmiştir. Buğday ve arpa karışımından yapılan kurabiyelere kenevir unu ilavesi ile diyet lif ve protein içeriği artırılmıştır (75). Glutensiz ekmeğelere %10 ve %20 oranında kenevir proteini kullanımının kenevir unu kullanılmayanlara göre yaklaşık olarak 2 katı kadar protein

içeriğinin arttırıldığı, %20 kenevir proteini kullanılarak üretilen ekmeklerin kontrol grubuna göre protein oranı 4 katından fazla, diyet lif içeriği ise yaklaşık 2 kat artmıştır. Ayrıca kenevir ürünleri ilave edilen ekmeklerde hacim artışı gözlemlenmiştir (76). Bu durumun kenevir proteinlerinin suyu emmesi, köpürmesi ve şişmiş ve kısmen jelatinize edilmiş nişasta ile birlikte ekmeğin yapısının oluşturulmasında rol oynadığı düşünülmektedir (77). Kenevir tohumunun öğütülmesi ile elde edilen unların lif içeriği ve protein değeri çavdar ununa göre sırasıyla 30 ve 2.6 kat, buğday unundan ise 2 kat daha proteine sahiptir. %10 kenevir unu kullanılarak üretilen ekmeklerde kontrol grubu (buğday ve çavdar karışımı) ekmeklere göre asitlik, mayalanma süresi, pişirme süresi ve pişirme sıcaklığı azalmıştır. Yine son ürün olan ekmekte %27.4 daha fazla protein, %497.2 daha fazla lif içeriği ile birlikte %148,9 kalsiyum artışı, %101.5 fosfor artışı ve %87,1 magnezyum artışı tespit edilmiştir. Ayrıca demir içeriği mg/100 g'da 3.9'dan 8.1'e yükselmiştir (78). İşlem görmemiş bütün kenevir tohumu ve kekinin %20-40 arasında pirinç ununa ilave edilerek formülize edilen ekstrüde edilmiş enerji barlarında; kenevir katkılı olanlar, kontrol grubuna göre daha düşük su emme indeksi, daha yüksek toplam fenolik, flavanoid ve antioksidan kapasite göstermiştir. Ayrıca kenevir tohumu ilavesi ile üretilen diyet barlarında biyoaktif özellikler, kenevir keki ilave olanlara göre yüksek çıkmış olup, formülasyona %20 oranında ilaveli olanlar tat, renk ve duyuşal açıdan geçer not almıştır (79). Jozinović ve Aćkar (80) tarafından yapılan çalışmada süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile yağdan ayrılmış kenevir keki ekstrüde edilmiş mısırdan yapılmış atıştırmalık üründe zenginleştirme ajanı olarak kullanılmıştır. Üzüm ve lahana sularına alternatif protein kaynağı olarak eklenen kenevir proteini, proinflatuar gen ekspresyonunu önemli ölçüde bastırmıştır. Ayrıca kenevir proteini izolatu eklenen meyve sularında kül ve diyet lif miktarı soya protein izolatu kullanılanlara göre daha yüksek çıkmıştır (81). Pastörizasyondan önce çiğ süte eklenen kenevir proteini, diğer bileşenler olan kabak çekirdeği unu, soya ve bezelye proteini izolatları ve buğday glutenine göre yoğurdun sinerezini azaltmış, viskozitesini iyileştirmiş ve protein oranını arttırmıştır. Kenevir proteini ilaveli yoğurtlar duyuşal açıdan da geçer not almıştır (72). Son yıllarda kenevir tohumu ve kenevir tohumu yağı faydaları sebebiyle popüler olan birçok sertifikalı organik gıdanın içeriğine eklenmektedir (55). Nissen ve Zatta (82), üç yasal kenevir çeşidinden (Carmagnola, Fibranova ve Futura) ekstrakte edilen yağların Gram pozitif bakteriler, Gram negatif bakteriler ve 8 mayaya karşı inhibitör aktivitesini üzerine yaptıkları çalışmada, çeşide ve ekim süresine bağlı olarak farklı seviyelerde mikrobiyal büyümeyi önemli ölçüde inhibe ettiğini saptamışlardır. Kenevir yağı ve adaçayı yağı kullanılarak üretilen yenilebilir karakterize jelatin filmler ile et, elma, domates, patates ve peynir gibi ürünler kaplanmıştır. Kenevir yağının tek başına *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus, *Listeria innocua*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Penicillium expansum* üzerinde inhibisyon etkisi sırasıyla 1.9 ± 0.12 , 4.3 ± 0.23 , 5.2 ± 0.27 , 2.3 ± 0.14 ve 1.3 ± 0.11 mm inhibisyon zon çapı olarak belirlenirken, kenevir yağı: adaçayı yağı 1.5:0.5 karışımı ile hazırlanan filmler ise sırasıyla 3.6 ± 0.21 , 7.5 ± 0.38 , 8.1 ± 0.26 , 4.8 ± 0.11 ve 8.5 ± 0.41 mm inhibisyon zon çapı göstermiştir. Ayrıca kenevir yağı jelatin filmi çözünürlüğü ve kalınlığı tüm kombinasyonlardan daha yüksek çıkmıştır. Çalışma sonucuna göre kenevir yağı, gıdaların kaplanmasında umut vaat etmektedir (83). Nanoemülsiyon sistemleri potansiyelleri göz önüne alındığında gıda teknolojisinde önemli fırsatlar sunmaktadır. Jarzëbski ve Smulek (84) tarafından yapılan çalışmada, %5 kenevir tohumu yağı kullanılarak yapılan emülsiyonların stabilitesinin kullanılmayanlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca emülsiyon sistemlerinde kenevir tohumu yağının çeşitli gıda formülasyonlarında kullanımının genel olarak besinsel ve teknolojik faydalarını arttırabildiği deklare edilmiştir. Zajac ve Guzik (85) tarafından yapılan işlenmiş et ürünlerinde % 5 oranında kenevir tohumu, kabuğu soyulmuş kenevir tohumu, kenevir unu ve kenevir proteini kullanımının son üründe besleyici değerleri arttırdığı ve oksidasyon prosesini azalttığı bildirilmiştir.

Bilimin ışığında CBD'nin kenevir yasaklarının gölgesinden kurtulması ile CBD ilaveli gıda ürünleri yükselişe geçmiştir. Özellikle CBD'nin sıvıya infüzyonu ile üretilen sütler, çaylar, kahveler, narenciye bazlı içecekler, aromalı-minerali sular, maden suları, enerji içecekleri ilk etapta üretilen ürünlerdendir. Ülke yasal çerçevelerinde çeşitli amaçlar için üretilmiş kenevir aşılanmış sütler, arpa bazlı gazlı içecekler, ballar ve güçlendirilmiş sporcu ürünleri ve günlük tüketimi olan; çaylar, kahveler, pizza, şekerlemeler, kahvaltılık gevrekler, sakızlar, çikolatalı kurabiyeler/kekler gün geçtikçe market raflarında yerlerini almaktadır (3).

4. Sonuç

Gerek beslenme probleminin çözümü için gerekse de gıdaları zenginleştirmek amaçlı alternatif gıda kaynakların kullanımı ve bunlar hakkındaki araştırmalar sürekli olarak artmaktadır. Araştırmacılar, hayvansal kaynaklara erişimin sürdürülebilirliğindeki sıkıntılar nedeniyle bunların yerini tutacak bitkisel analoglar üzerine odaklanmaktadır. Kenevir tohumu mükemmel bir besin kaynağıdır. Ham kenevir tohumu ve unu, yağı ve yağı alındıktan sonra arta kalan kenevir yan ürünü olan kekinin besleyici, fonksiyonel ve farmakolojik etkilerinin olduğu bilinen bir gerçektir. Bu bağlamda kenevirten ekstraktlar, yağlar, distilatlar ve izolatlar gibi çeşitli ticari ürünler üretilebilir ve birçok gıda formülasyonuna entegre veya infüze edilebilir.

Ülkelerin kenevir ve yan ürünlerinin gıda ürünlerinde kullanılabilirliği hakkındaki yasal düzenlemeleri yapması son derece önemlidir. Atılacak olan adımlar ile hem bilimsel

çalışmaların hem de kenevir entegreli gıda ürünlerin üretiminde artış kaydedileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Andre CM, Hausman J-F, Guerriero G. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science* 2016; 7:19. doi.org/10.3389/fpls.2016.00019.
- Small E, Cronquist A. A practical and natural taxonomy for *Cannabis*. *Taxon* 1976:405-435. doi.org/10.2307/1220524.
- King JW. The relationship between cannabis/hemp use in foods and processing methodology. *Current Opinion in Food Science* 2019; 28:32-40. doi.org/10.1016/j.cofs.2019.04.007.
- Callaway J. Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica* 2004; 1401:65-72. doi.org/10.1007/s10681-004-4811-6.
- Gedik G, Avinç O, Yavaş A. Kenevir lifinin özellikleri ve tekstil endüstrisinde kullanımıyla sağladığı avantajlar. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi* 2010; 43:39-48.
- McPartland JM. *Cannabis* systematics at the levels of family, genus, and species. *Cannabis and Cannabinoid Research* 2018; 31:203-212. doi.org/10.1089/can.2018.0039.
- Gourdet C, Giombi KC, Kosa K, Wiley J, Cates S. How four US states are regulating recreational marijuana edibles. *International Journal of Drug Policy* 2017; 43:83-90. doi.org/10.1016/j.drugpo.2017.01.018.
- Foti VT, Scuderi A, Bellia C. Actuality and future prospects of *Cannabis sativa* L. Crops. Features and Problems. *Quality-Access to Success* 2019; 20.
- Fike J. The History of Hemp. Williams DV. eds. In: *Industrial Hemp as a Modern Commodity Crop*. Madison: American Society of Agromony, 2019; pp.1-25.
- Carus M, Sarmiento L. The European Hemp Industry: Cultivation, processing and applications for fibres, shivs, seeds and flowers. *European Industrial Hemp Association* 2016:1-9.
- Keller A, Leupin M, Mediavilla V, Wintermantel E. Influence of the growth stage of industrial hemp on chemical and physical properties of the fibres. *Industrial Crops and Products* 2001; 131:35-48. doi.org/10.1016/S0926-6690(00)00051-0.
- Flores-Sanchez IJ, Verpoorte R. Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry Reviews* 2008; 73:615-639. doi.org/10.1007/s11101-008-9094-4.
- Harbige L, Layward L, Morris-Downes M, Dumonde D, Amor S. The protective effects of omega-6 fatty acids in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in relation to transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1) up-regulation and increased prostaglandin E2 (PGE2) production. *Clinical & Experimental Immunology* 2000; 1223:445-452. doi.org/10.1046/j.1365-2249.2000.01399.x.
- Da Porto C, Decorti D, Tubaro F. Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops and Products* 2012; 361:401-404. doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.09.015.
- Teh S-S, Birch J. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils. *Journal of Food Composition and Analysis* 2013; 301:26-31. doi.org/10.1016/j.jfca.2013.01.004.
- Richard M, Ganguly R, Steigerwald S, Al-Khalifa A, Pierce G. Dietary hempseed reduces platelet aggregation I. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 52:424-425. doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02327.x.
- Callaway J, Schwab U, Harvima I, Halonen P, Mykkänen O, et al. Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment* 2005; 162:87-94. doi.org/10.1080/09546630510035832.
- Grotenhermen F, Russo E. Cannabis and cannabinoids: pharmacology, toxicology, and therapeutic potential. *Psychology Press*, 2002; p. 429.
- Montserrat-de la Paz S, Marín-Aguilar F, García-Gimenez MD, Fernández-Arche MA. Hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil: analytical and phytochemical characterization of the unsaponifiable fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014; 62(5), 1105-1110. doi.org/10.1021/jf404278q.
- Jiang Q, Christen S, Shigenaga MK, Ames BN. γ-Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2001; 746:714-722. doi.org/10.1093/ajcn/74.6.714.
- Rezapour-Firouzi S, Arefhosseini SR, Ebrahimi-Mamaghani M, Baradaran B, Sadeghihokmabad E, et al. Activity of liver enzymes in multiple sclerosis patients with Hot-nature diet and co-supplemented hemp seed, evening primrose oils intervention. *Complementary Therapies in Medicine* 2014; 226:986-993. doi.org/10.1016/j.ctim.2014.10.004.
- ElSohly MA. Practical challenges to positive drug tests for marijuana. *Clinical Chemistry* 2003; 497:1037-1039. doi.org/10.1373/49.7.1037.
- Lachenmeier DW, Kroener L, Musshoff F, Madea B. Determination of cannabinoids in hemp food products by use of headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2004; 3781:183-189. doi.org/10.1007/s00216-003-2268-4.
- Tang C-H, Ten Z, Wang X-S, Yang X-Q. Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 5423:8945-8950. doi.org/10.1021/jf0619176.
- Malomo SA, He R, Aluko RE. Structural and functional properties of hemp seed protein products. *Journal of Food Science* 2014; 798:C1512-C1521. doi.org/10.1111/1750-3841.12537.
- Wang Q, Xiong YL. Processing, nutrition, and functionality of hempseed protein: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2019; 184: 936-952. doi.org/10.1111/1541-4337.12450.
- Odani S, Odani S. Isolation and primary structure of a methionine-and cystine-rich seed protein of *Cannabis sativa*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 1998; 624:650-654. doi.org/10.1271/bbb.62.650.
- Ponzoni E, Brambilla I, Galasso I. Genome-wide identification and organization of seed storage protein genes of *Cannabis sativa*. *Biologia Plantarum* 2018; 624:693-702. doi.org/10.1007/s10535-018-0810-7.
- Malomo SA, Aluko RE. Conversion of a low protein hemp seed meal into a functional protein concentrate through enzymatic digestion of fibre coupled with membrane ultrafiltration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2015; 31:151-159. doi.org/10.1016/j.ifset.2015.08.004.
- Teh S-S, Bekhit AE-D, Carne A, Birch J. Effect of the defatting process, acid and alkali extraction on the physicochemical and functional properties of hemp, flax and canola seed cake protein isolates. *Journal of Food Measurement and Characterization* 2014; 82:92-104. doi.org/10.1007/s11694-013-9168-x.
- Hadnadev M, Dapčević-Hadnadev T, Lazaridou A, Moschakis T, Michaelidou A-M, et al. Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part I. physicochemical properties. *Food Hydrocolloids* 2018; 79:526-533. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.015.

32. Aiello G, Fasoli E, Boschin G, Lammi C, Zanoni C, et al. Proteomic characterization of hempseed (*Cannabis sativa* L.). *Journal of Proteomics* 2016; 147:187-196. doi.org/10.1016/j.jprot.2016.05.033.
33. Sun X, Sun Y, Li Y, Wu Q, Wang L. Identification and Characterization of the Seed Storage Proteins and Related Genes of *Cannabis sativa* L. *Frontiers in Nutrition* 2021; 8:297. doi.org/10.3389/fnut.2021.678421.
34. Malomo SA, Onuh JO, Girgih AT, Aluko RE. Structural and antihypertensive properties of enzymatic hemp seed protein hydrolysates. *Nutrients* 2015; 79:7616-7632. doi.org/10.3390/nu7095358.
35. Wei LH, Dong Y, Sun YF, Mei XS, Ma XS, et al. Anticancer property of Hemp Bioactive Peptides in Hep3B liver cancer cells through Akt/GSK3 β -catenin signaling pathway. *Food Science & Nutrition* 2021; 94:1833-1841. doi.org/10.1002/fsn3.1976.
36. Martinenghi LD, Jönsson R, Lund T, Jenssen H. Isolation, Purification, and antimicrobial characterization of cannabidiolic acid and cannabidiol from *Cannabis sativa* L. *Biomolecules* 2020; 106:900. doi.org/10.3390/biom10060900.
37. Orio LP, Boschin G, Recca T, Morelli CF, Ragona L, et al. New ACE-inhibitory peptides from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) proteins. *Journal of agricultural and food chemistry* 2017; 6548:10482-10488. doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04522.
38. Katz D, Katz I, Golan A. Medical Cannabis-A Source for a New Treatment for Autoimmune Disease? *Harefuah* 2016; 1552:74-8, 133.
39. Zanoni C, Aiello G, Arnoldi A, Lammi C. Hempseed peptides exert hypocholesterolemic effects with a statin-like mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2017; 6540:8829-8838. doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02742.
40. Ren Y, Liang K, Jin Y, Zhang M, Chen Y, et al. Identification and characterization of two novel α -glucosidase inhibitory oligopeptides from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed protein. *Journal of Functional Foods* 2016; 26:439-450. doi.org/10.1016/j.jff.2016.07.024.
41. Girgih AT, Udenigwe CC, Aluko RE. Reverse-phase HPLC separation of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate produced peptide fractions with enhanced antioxidant capacity. *Plant Foods for Human Nutrition* 2013; 681:39-46. doi.org/10.1007/s11130-013-0340-6.
42. Malomo SA, Aluko RE. A comparative study of the structural and functional properties of isolated hemp seed (*Cannabis sativa* L.) albumin and globulin fractions. *Food Hydrocolloids* 2015; 43:743-752. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.001.
43. Joshi M, Adhikari B, Aldred P, Panozzo J, Kasapis S, et al. Interfacial and emulsifying properties of lentil protein isolate. *Food Chemistry* 2012; 1343:1343-1353. doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.029.
44. Abugoch LE, Romero N, Tapia CA, Silva J, Rivera M. Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 2008; 5612:4745-4750. doi.org/10.1021/jf703689u.
45. House JD, Neufeld J, Leson G. Evaluating the quality of protein from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010; 5822:11801-11807. doi.org/10.1021/jf102636b.
46. Wang X-S, Tang C-H, Yang X-Q, Gao W-R. Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins. *Food Chemistry* 2008; 1071:11-18. doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.064.
47. Raikos V, Neacsu M, Russell W, Duthie G. Comparative study of the functional properties of lupin, green pea, fava bean, hemp, and buckwheat flours as affected by pH. *Food Science & Nutrition* 2014; 26:802-810. doi.org/10.1002/fsn3.143.
48. Zayas JF. *Functionality of proteins in food*. 2012: Springer science & business media.
49. Dapčević-Hadnađev T, Hadnađev M, Lazaridou A, Moschakis T, Biliaderis CG. Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part II. gelation properties at different ionic strengths. *Food Hydrocolloids* 2018; 81:481-489. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.022.
50. Damodaran S. Structure-function relationship of food proteins. *Protein Functionality in Food Systems* 1994; 9:1-37.
51. ElSohly MA, Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences* 2005; 785:539-548. doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.011.
52. Ranganathan M, D'Souza DC. The acute effects of cannabinoids on memory in humans: a review. *Psychopharmacology* 2006; 1884:425-444. doi.org/10.1007/s00213-006-0508-y.
53. Mechoulam R, Fride E, Di Marzo V. Endocannabinoids. *European Journal of Pharmacology* 1998; 3591:1-18. doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00649-9.
54. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews* 2000; 524:673-751.
55. Vonapartis E, Aubin M-P, Seguin P, Mustafa AF, Charron J-B. Seed composition of ten industrial hemp cultivars approved for production in Canada. *Journal of Food Composition and Analysis* 2015; 39:8-12. doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.004.
56. Gorham J. Stilbenes and phenanthrenes, in *Methods in plant biochemistry*. Elsevier, 1989; p. 159-196. doi.org/10.1016/B978-0-12-461011-8.50011-1.
57. Djoko B, Chiou RY-Y, Shee J-J, Liu Y-W. Characterization of immunological activities of peanut stilbenoids, arachidin-1, piceatannol, and resveratrol on lipopolysaccharide-induced inflammation of RAW 264.7 macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007; 556:2376-2383. doi.org/10.1021/jf062741a.
58. Estrada-Soto S, López-Guerrero J, Villalobos-Molina R, Mata R. Endothelium-independent relaxation of aorta rings by two stilbenoids from the orchids *Scaphyglottis livida*. *Fitoterapia* 2006; 77:236-239. doi.org/10.1016/j.fitote.2006.02.006.
59. Stivala LA, Savio M, Carafoli F, Perucca P, Bianchi L, et al. Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 27625:22586-22594. doi.org/10.1074/jbc.M101846200.
60. Kostecki K, Engelmeier D, Pacher T, Hofer O, Vajrodaya S, et al. Dihydrophenanthrenes and other antifungal stilbenoids from *Stemona cf. pierrei*. *Phytochemistry* 2004; 651:99-106. doi.org/10.1016/j.phytochem.2003.09.015.
61. Ross S, ElSohly M. Constituents of *Cannabis Sativa* L. XXVIII A review of the natural constituents: 1980-1994. *Zagazig Journal of Pharmaceutical Sciences* 1995; 41:1-10. doi.org/10.21608/zjps.1995.169714.
62. McGarvey DJ, Croteau R. Terpenoid metabolism. *The plant cell* 1995; 77:1015. doi.org/10.2307/3870054.
63. McPartland J, Mediavilla V. *Noncannabinoid components*. New York: Haworth Press, 2002; pp.401-410.
64. Sakakibara I, Ikeya Y, Hayashi K, Okada M, Maruno M. Three acyclic bis-phenylpropane lignanamides from fruits of *Cannabis sativa*. *Phytochemistry* 1995; 384:1003-1007. doi.org/10.1016/0031-9422(94)00773-M.

65. Chen J-J, Huang S-Y, Duh C-Y, Chen I-S, Wang T-C, et al. A new cytotoxic amide from the stem wood of *Hibiscus tiliaceus*. *Planta Medica* 2006; 7210:935-938. doi.org/10.1055/s-2006-931604.
66. Kim Y, Han MS, Lee JS, Kim J, Kim YC. Inhibitory phenolic amides on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 cells from *Beta vulgaris* var. *cicla* seeds. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 2003; 178:983-985. doi.org/10.1002/ptr.1232.
67. Slatkin DJ, Doorenbos NJ, Harris LS, Masoud AN, Quimby MW, et al. Chemical constituents of *Cannabis sativa* L. root. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1971; 6012:1891-1892. doi.org/10.1002/jps.2600601232.
68. Ma C-Y, Liu WK, Che C-T. Lignanamide and Nonalkaloidal Components of *Hyoscyamus niger* Seeds. *Journal of Natural Products* 2002; 652:206-209. doi.org/10.1021/np010073b.
69. Yan X, Tang J, dos Santos Passos C, Nurisso A, Simoes-Pires CA, et al. Characterization of lignanamides from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed and their antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2015; 6349:10611-10619. doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05282.
70. Gutiérrez-Grijalva EP, López-Martínez LX, Contreras-Angulo LA, Elizalde-Romero CA, Heredia JB. Plant alkaloids: structures and bioactive properties. In: *Plant-Derived Bioactives*. Springer, 2020; p. 85-117. doi.org/10.1007/978-981-15-2361-8_5.
71. Apostol L, Popa M, Mustatea G. *Cannabis sativa* L. partially skimmed flour as source of bio-compounds in the bakery industry. *Romanian Biotechnological Letters* 2015; 205:10835-10844.
72. Dabija A, Codină GG, Gâtlan A-M, Sânduleac ET, Rusu L. Effects of some vegetable proteins addition on yogurt quality. *Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry* 2018; 192:181-192.
73. Radočaj O, Dimić E, Tsao R. Effects of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil press-cake and decaffeinated green tea leaves (*Camellia sinensis*) on functional characteristics of gluten-free crackers. *Journal of Food Science* 2014; 793:318-325. doi.org/10.1111/1750-3841.12370.
74. Pojić M, Dapčević Hadnađev T, Hadnađev M, Rakita S, Brlek T. Bread supplementation with hemp seed cake: A by-product of hemp oil processing. *Journal of Food Quality* 2015; 386:431-440. doi.org/10.1111/jfq.12159.
75. Hrušková M, Švec I. Cookie making potential of composite flour containing wheat, barley and hemp. *Czech Journal of Food Sciences* 2015; 336:545-555. doi.org/10.17221/9/2015-CJFS.
76. Korus J, Witczak M, Ziobro R, Juszcak L. Hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) flour and protein preparation as natural nutrients and structure forming agents in starch based gluten-free bread. *LWT* 2017; 84:143-150. doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.046.
77. Ziobro R, Witczak T, Juszcak L, Korus J. Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids* 2013; 322:213-220. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.006.
78. Lukin A, Bitiutskikh K. On potential use of hemp flour in bread production. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Forestry, Wood Industry, Agricultural Food Engineering. Series II* 2017; 101.
79. Norajit K, Gu B-J, Ryu G-H. Effects of the addition of hemp powder on the physicochemical properties and energy bar qualities of extruded rice. *Food Chemistry* 2011; 1294:1919-1925. doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.002.
80. Jozinović A, AčkAr Đ, Jokić S, BABić J, BAlečić JP, et al. Optimisation of extrusion variables for the production of corn snack products enriched with defatted hemp cake. *Czech Journal of Food Sciences* 2017; 356:507-516. doi.org/10.17221/83/2017-CJFS.
81. Grace MH, Yousef GG, Esposito D, Raskin I, Lila MA. Bioactive capacity, sensory properties, and nutritional analysis of a shelf stable protein-rich functional ingredient with concentrated fruit and vegetable phytoactives. *Plant Foods For Human Nutrition* 2014; 694:372-378. doi.org/10.1007/s11130-014-0444-7.
82. Nissen L, Zatta A, Stefanini I, Grandi S, Sgorbati B, et al. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoterapia* 2010; 815:413-419. doi.org/10.1016/j.fitote.2009.11.010.
83. Cozmuta AM, Turila A, Apjok R, Ciocian A, Cozmuta LM, et al. Preparation and characterization of improved gelatin films incorporating hemp and sage oils. *Food Hydrocolloids* 2015; 49:144-155. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.022.
84. Jarzębski M, Smulek W, Siejak P, Rezler R, Pawlicz J, et al. *Aesculus hippocastanum* L. as a Stabilizer in Hemp Seed Oil Nanoemulsions for Potential Biomedical and Food Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 222:887. doi.org/10.3390/ijms22020887.
85. Zajac M, Guzik P, Kulawik P, Tkaczewska J, Florkiewicz A, et al. The quality of pork loaves with the addition of hemp seeds, de-hulled hemp seeds, hemp protein and hemp flour. *LWT* 2019; 105:190-199. doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.013.



Anti-Müllerian Hormonun Dişi Kedi ve Köpeklerde Klinik Kullanımı

Semra KAYA¹✉, Gizem AKIN², Gökhan KOÇAK³, Cihan KAÇAR¹

¹ Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars/TÜRKİYE

² Kemalpaşa Belediyesi, Geçici Hayvan Bakımevi, İzmir/TÜRKİYE

³ Iğdır Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Iğdır/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 22.09.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 08.10.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Kaya S, Akın G, Koçak G, Kaçar C. Anti-Müllerian Hormonun Dişi Kedi ve Köpeklerde Klinik Kullanımı. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):57-61.

Özet: Anti-Müllerian hormon (AMH) dişilerde vajina, uterus ve oviduktta içeren Müller kanalının gelişiminden sonra ovaryumlarda üretilen glikoprotein yapıda bir hormondur. Yetişkin kedi ve köpeklerde periferal dolaşımda ölçülebilecek düzeye ulaşmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, AMH analizinin klinik muayenelerde kullanılmasının reproduktif endokrinolojiye katkı sağladığı ortaya konulmuş durumdadır. Anti-Müllerian hormon dişi kedi ve köpeklerde yalnızca ovaryumun granuloza hücrelerinde üretilmesi nedeniyle, bu organın pek çok fizyolojik ve patolojik durumunun teşhisine olanak sağlar. Sunulan derlemede dişi kedi ve köpeklerde AMH düzeyine etki eden faktörler ve klinik endikasyonları hakkında en son bilgiler aktarılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Anti-Müllerian hormon, Kedi, Köpek, Ovaryum, Üreme

Clinical Use of Anti-Mullerian Hormone in Female Cats and Dogs

Abstract: Anti-Mullerian hormone (AMH) is a glycoprotein hormone which is produced by ovaries, after the development of the Mullerian duct that gives rise to female reproductive organs such as the vagina, uterus and oviduct. The AMH is detected at measurable concentrations in the peripheral blood samples of adult queens and bitches. In recent studies has been indicated that the use of AMH analysis in clinical examinations has contributed to reproductive endocrinology. The AMH which is produced by only granulosa cells of the ovary, is facilitated the diagnosis of many physiological and pathological conditions of queens and bitches. In the current review, a recent information about the factors affecting the AMH concentrations and the clinical indication of AMH are presented.

Keywords: Anti-Müllerian hormone, Cat, Dog, Ovarian, Reproduction

1. Giriş

Müllerian inhibe edici madde (MIS) olarak da bilinen anti-Müllerian hormon (AMH); inhibin ve aktivin içeren, transforme edici büyüme faktörü (TGF- β) ailesine ait olan bir glikoproteindir (1, 2). Adını erkek cinsiyet farklılaşmasındaki rolünden almaktadır (3). Bu hormon ilk defa Jost (4) tarafından erkek tavşan fetüsünde yapılan bir çalışmada, Müllerian kanalın gerilemesinden sorumlu testiküler faktör olarak tanımlanmıştır. Daha sonra fetal sertoli hücreleri tarafından üretildiği saptanmıştır (3, 5). Anti-Müllerian hormon fetal dönemde paramesonefrik kanalların gerilemesini sağlayarak erkekte cinsiyetin farklılaşmasını sağlamaktadır (1, 5). Testosteron ve AMH arasında negatif bir ilişki bulunmaktadır (5). Pubertastan sonra Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron olgun Sertoli hücrelerinde bulunan reseptörlere bağlanarak AMH üretimini inhibe etmektedir (5, 6).

Fetal dönemde erkek fetüslerden farklı olarak dişi fetüslerin ovaryumlarında AMH üretilmemektedir (5). Dişi fetüste AMH üretimi olmaması nedeniyle paramesonefrik kanallar gelişmekte ve genital organlar şekillenmektedir (1, 7).

Müller kanalı gelişimini tamamladıktan sonra ovaryumlar AMH üretme yeteneğine sahip olurlar. Dişi hayvanlarda AMH üretiminin tek kaynağı ovaryumlardır (8). Köpeklerde foliküller primordiyal, primer, sekonder (preantral), erken antral (tersiyer) ve ileri antral (Graaf folikülü) olarak sınıflandırılmaktadır (9). AMH seviyesi primordiyal foliküllerin gelişimi ile artmaya başlamakta, preantral ve küçük antral foliküllerin gelişimiyle maksimum seviyeye ulaşmakta ve gelişen antral foliküllerle birlikte giderek azalmaktadır (1). AMH hedef hücrelerde otokrin ve parakrin etki sağlamaktadır (7). Fonksiyonel açıdan AMH folikül uyarıcı hormonun (FSH) primordiyal folikül üzerindeki büyüme uyarıcı etkisini negatif geri bildirim etkisiyle inhibe etmektedir. Preantral ve küçük antral foliküllerin FSH'ya olan duyarlılığını otokrin şekilde etkileyerek FSH'nın foliküllerin gelişimi üzerine olan uyarıcı etkisini baskılayıp seçilmelerini engellemektedir. Küçük foliküller büyüyüp farklılaşmaya başladığında ise AMH azalmaya başlamakta ve farklılaşma ile birlikte FSH duyarlılığı artarak folikül seçimi gerçekleşmektedir (1, 5, 6). Bu nedenle AMH'nın aktif foliküllerin gelişimini engelleyerek primordiyal folikül sayısının erken tükenmesinin önüne geçtiği ve dişilerde

üreme ömrünün uzamasına katkıda bulunduğu inanılmaktadır (1).

2. Serum AMH düzeyini etkileyen faktörler

Yaş, tür, ırk, vücut ağırlığı ve boyutları, seksüel siklusun dönemi ve test tipi gibi pek çok faktör serum AMH düzeyi üzerine etkili olmaktadır.

2.1. Yaşın etkisi

Kedilerde ve köpeklerde serum AMH düzeyinin yaşa bağlı olarak önemli oranda değiştiği bildirilmektedir (10-12). Dört yaşından küçük köpeklerde serum AMH düzeyinin (12,4ng/mL) 4 yaşından büyük köpeklerden (10,5±5,2 ng/mL) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (10, 13). Her bir yaş artışında serum AMH düzeyinin 0,5 ng/mL azaldığı saptanmıştır (10). Benzer şekilde Korkmaz ve ark. (14) tarafından yapılan çalışmada genç köpeklerde (2 yaş) serum AMH düzeyinin (0,233±0,046 ng/mL) yaşlı köpeklerden (8-10 yaş) daha yüksek (0,099±0,008 ng/mL) olduğu saptanmıştır. Alkan ve ark. (15) tarafından yapılan çalışmada ise prepubertal dönemdeki köpeklerde serum AMH düzeyinin puberta sonrası dönemdeki tüm östrüs siklusu dönemlerinde belirlenen AMH düzeyinden az olduğu saptanmıştır. Fakat bu farkın yalnızca proöstrüs döneminde istatistiksel olarak anlamlı olduğu, diğer dönemlerde (anöstrüs, östrüs ve diöstrüs) anlamsız olduğu saptanmıştır.

Kedilerde yaşın serum AMH düzeyi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada 1 yaşın altındaki kedilerde serum AMH düzeyinin (1,86±1,73 ng/mL) 1 yaşın üzerindeki (3,57±2,28 ng/mL) kedilerden daha düşük olduğu saptanmıştır (16). Bu çalışmanın aksine Snoeck ve ark. (11) tarafından yapılan çalışmada peripubertal kedilerde (3-12 ay) serum AMH düzeyinin (9,27 mcg/L), pubertal kedilerden (>12 ay) daha yüksek (4,13 mcg/L) olduğu saptanmıştır.

2.2. Hayvan türünün ve ırkının etkisi

Aynı test yönteminin kullanıldığı bir çalışmada, kısırlaştırılmamış kedilerde serum AMH düzeyinin köpeklerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Fakat bu durumun çapraz reaksiyondan mı kaynaklandığı ya da gerçekten mi yüksek olduğu henüz bilinmemektedir (8).

İrkin AMH düzeyi üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir. Walter ve ark. (17) tarafından yapılan çalışmada Beagle ırkı köpeklerde tüm östrüs siklusu boyunca (özellikle geç proöstrüs ve preovulatör östrüs döneminde) AMH düzeyinin Labrador ırkı köpeklerden yüksek olduğu saptanmıştır.

2.3. Vücut ağırlığı ve boyutlarının etkisi

Köpeklerde vücut ağırlığının serum AMH düzeyini önemli oranda etkilediği bildirilmektedir (10, 12). İri cüsseli (>40 kg) köpeklerde serum AMH düzeyinin küçük ırk köpeklere

göre önemli ölçüde daha az olduğu saptanmıştır (12). Hollinshead ve ark. (10) tarafından yapılan çalışmada vücut ağırlığının 40 kg'dan fazla olduğu köpeklerde serum AMH düzeyinin küçük (<12 kg), orta (13-25 kg) ve büyük (26-40 kg) köpek ırklarından daha düşük olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde bir diğer çalışmada iri cüsseli köpeklerde serum AMH düzeyinin (1,75-15,6 ng/mL), küçük ırk (5,6-24,2 ng/mL), orta ırk (4,3-23,7 ng/mL) ve büyük cüsseli ırklardan (4,3-21,0 ng/mL) önemli oranda düşük olduğu saptanmıştır (13).

2.4. Seksüel siklus döneminin etkisi

Serum AMH düzeyinin bireysel olarak büyük oranda varyasyonlar gösterdiği (12) ve seksüel siklus döneminin AMH düzeyini önemli oranda etkilediği bildirilmektedir (15, 17, 18). Anadol ve ark. (18) tarafından yapılan çalışmada sekonder folikül sayısı ile AMH düzeyi arasında pozitif bir korelasyon olduğu, antral folikül sayısı ile serum AMH düzeyi arasında ise negatif korelasyon olduğu saptanmıştır. Alkan ve ark. (15) tarafından yapılan çalışmada en yüksek serum AMH düzeyinin proöstrüs döneminde olduğu saptanmıştır. Proöstrüs ve östrüs dönemindeki köpeklerin serum AMH düzeylerinin diöstrüs ve anöstrüs dönemindeki köpeklerden önemli oranda yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde yapılan bir diğer çalışma da serum AMH düzeyinin LH pikinden 4 gün önce önemli oranda azaldığı saptanmıştır (19).

2.5. Test ve örnek tipinin etkisi

İnsan AMH test kitleri kedi ve köpeklerde AMH düzeyinin analizi için kullanılabilir (8). Çapraz reaksiyon oluşma oranının farklı test kitlerine göre değiştiği bildirilmektedir (12). Köpeklere özel ELISA antikor kiti ile belirlenen AMH düzeyinin, insan bazlı AMH ELISA kitinde belirlenen düzeyden çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (7). Kısırlaştırılmamış köpeklerde insan bazlı AMH kiti ve köpek bazlı AMH kiti kullanıldığında aynı hayvanlarda elde edilen ortalama AMH değerlerinin sırasıyla 0,32±0,24 ng/mL ve 12,8±22,81 ng/mL olduğu bulunmuştur. Farklı test kitlerinin kullanılması farklı oranlarda AMH düzeyinin ölçülebileceğini göstermektedir (7).

Kan örneğinin AMH düzeyini değiştirdiği bildirilmektedir (12). Heparin içeren plazma kanında AMH düzeyinin serum AMH düzeyinden 0,66 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (5).

3. Anti-Müllerian Hormonun klinik kullanım alanları

Ovaryumların varlığı ya da yokluğu koruyucu hekimlik açısından oldukça önemlidir. Anamnez, klinik bulgular, deneysel laparotomi, vajinal sitoloji, hormonal uyarı veya abdominal ultrasonografi ovaryum dokusunun varlığının belirlenmesi amacıyla kullanılan yöntemlerdir (15, 20). Bunların arasında vajinal sitoloji veya hormonal uyarım gibi

yöntemler hayvanın seksüel olarak aktif dönemde olmasını veya sıklıkla tekrarlı uygulamalar yapılmasını gerektirmektedir (15, 20). Ultrasonografik muayeneler ise hekimin tecrübesi ve hayvanın bulunduğu siklus dönemi ve kalıntının büyüklüğü ovaryum dokusunun tespiti açısından önem taşımaktadır (8). Dolaşımdaki AMH'nin tek kaynağı ovaryum olduğundan (8) özellikle medikal geçmiş hakkında herhangi bir bilgiye sahip olunmayan köpeklerde ovaryan dokunun varlığı hakkında bilgi edinmek için AMH ölçümleri yapılmaktadır (21). Seksüel aktivitenin bazal seviyede olduğu anöstrüs döneminde de serum AMH konsantrasyonları ölçülerek ovaryum varlığının belirlenebileceği bildirilmektedir (15).

3.1. Cerrahi sterilizasyon uygulanan dişilerin saptanması

Anti-Müllerian hormon konsantrasyonu ile seksüel siklus evresine bakılmaksızın dişi kedi ve köpeklerde kısırlaştırma operasyonunun yapıp yapılmadığı hakkında fikir sahibi olunabilir (17). Ovaryohistektomi operasyonunu takip eden 10. günde serum AMH düzeyi ciddi oranda düşmektedir (7, 18). Alm ve Holst (21) tarafından yapılan çalışmada, AMH düzeyine bakılarak 73 kısırlaştırılmamış köpeğin 64'ünde (%88), kısırlaştırılan köpeklerin ise %98'i (51/52) doğru tahmin edilmiştir. Yağcı ve ark. (7) tarafından yapılan çalışmada kısırlaştırılmış köpeklerde serum AMH düzeyinin (0,006±0,22 ng/mL) kısırlaştırma öncesine (0,32±0,24 ng/mL) göre önemli oranda düştüğü tespit edilmiştir. Serum AMH düzeyine bakılarak ovarektomi yapıp yapılmadığı yetişkin köpeklerde doğru bir şekilde tespit edilmesine (7, 21) rağmen prepubertal köpeklerde AMH konsantrasyonları yanlış yorumlanabilmektedir (8). Prepubertal dönemde kısırlaştırılmayan köpeklerde serum AMH düzeyinin belirlenen eşik değerden (0,009 ng/mL) düşük çıkabildiği belirlenmiştir. Bu nedenle yetişkin dişi köpeklerde AMH'nin kısırlaştırmanın tanısında daha güvenilir bir metot olduğu bildirilmektedir (8).

Köpeklerle benzer şekilde kısırlaştırılmış kedilerinde doğru şekilde tahmin edilmesinde AMH düzeyinin faydalı olduğu belirlenmiştir (22). Kısırlaştırılan kedilerde AMH düzeyinin <0,14 ng/mL, kısırlaştırılmamış kedilerde ise 1,3-19 ng/mL olduğu saptanmıştır (22). Heaps ve ark. (23) tarafından yapılan çalışmada 2 ay önce kısırlaştırılmış kedilerde serum AMH düzeyinin <0,04 ng/mL'den az olduğu saptanmıştır.

3.2. Ovaryan remnant sendromu tanısı

Ovaryum remnant sendromu (ORS) birkaç farklı yöntemle tespit edilebilmektedir. Bu testlerin bir bölümünde seksüel siklusun evresine bağlı olarak güvenilirlikleri değişebilmektedir. GnRH sitümlasyon testi gibi yöntemlerde ise birden fazla örnekleme yapılmasına ihtiyaç duyulabilmektedir (12). Serum AMH düzeyinin köpeklerde ORS'nin tanısında güvenle kullanılabileceği bildirilmektedir (8, 20). ORS'li köpeklerde serum AMH düzeyinin (4,40±1,09 ng/mL) kısırlaştırılmamış köpeklerdeki düzeyle

(4,26±0,82 ng/mL) benzer olduğu, kısırlaştırılmış köpeklerdeki AMH düzeyinden (0,28±0,09 ng/mL) çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (20).

Axner ve Holts (22) tarafından yapılan bir çalışmada hormon uyarı testi amacıyla kedilere yapılan GnRH enjeksiyonundan önce (0. saat) ve enjeksiyonu takip eden 2. saatte kan alınarak serum AMH, östrojen ve progesteron düzeyleri araştırılmıştır. AMH'nin GnRH'nın uyarıcı etkisinden etkilenmediği belirlenmiştir. GnRH enjeksiyonundan önce ve sonra serum östrojen düzeyi ile AMH arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Bu sonuçlar kısırlaştırılmış ve hormon uyarı testi yapılan kedilerde AMH düzeyinin değişmediği için kısırlaştırmanın doğru tanısında güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

3.3. Ovaryan kistlerin tanısı

Luteal kist olgularında AMH düzeyi foliküler kist olgusundan daha yüksek olmasına rağmen aslında bu değerlerin siklik köpeklerdeki AMH konsantrasyon değerleri arasında olduğu bildirilmiştir (24). Kistik ovaryum hastalığı bulunan bir kedide serum östrojen düzeyinin normal östrüs döneminde bulunan kedilerden çok daha yüksek belirlenmesine rağmen, serum AMH düzeyinin (1,8 ng/mL), östrüs dönemindeki bir kedide olması gereken AMH düzeyi aralığında (1,2-5,8 ng/mL) olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakılarak köpek ve kedilerde kistik ovaryum teşhisinde AMH'nin indikatör olarak kullanılamayacağı görülmektedir (25).

3.4. Granüloza hücre tümörü tanısı

Serum AMH düzeyi granüloza hücre tümörlerinin diğer ovaryum patolojilerinden ayırt edilmesini sağlamaktadır (24). Granüloza hücre tümörüne sahip köpeklerde AMH düzeyinin sağlıklı veya diğer ovaryan tümörlere sahip köpeklerden çok daha yüksek olduğu saptanmıştır. Walter ve ark. (24) tarafından yapılan bu çalışmada granüloza hücre tümörüne sahip köpeklerde AMH düzeyinin 1,12-≤23 ng/mL arasında olduğu saptanmıştır. Diğer ovaryum tümörlerinde (sarkoma, epitelyal tümör veya disgerminom) AMH düzeyinin (0,18-1,18 ng/mL) granüloza hücre tümöründen çok düşük olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde granüloza hücre tümörlü kedide AMH değerinin (5,7 ng/mL) kısırlaştırılmamış ve kısırlaştırma operasyonu yapılmış sağlıklı kedilerden (1,7 ng/mL) çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (23).

3.5. Ovaryum rezervi ve fertilitenin belirlenmesi

Seksüel siklusun evresine göre yüksek varyasyonlar göstermesi nedeniyle serum AMH düzeyinin fertilitate belirteci olarak kullanımı güçtür. Hipotiroidizm, Cushing sendromu gibi endokrinolojik bozukluklar, tümör tedavisinde kullanılan kemoterapötikler veya kortizol kullanımının serum AMH düzeyini değiştirebileceği bildirilmektedir (12).

Ovaryum rezervinin belirlenmesinde AMH önemli bir belirteçtir (13). AMH büyüyen foliküllerin FSH'ya olan duyarlılığını azaltarak aktif olarak büyüyen folikül sayısını sınırlamakta ve oosit rezervinin korunmasında rol almaktadır (6). Hollinshead ve ark. (13) yapmış olduğu çalışmada insanlar ve diğer türlerdeki bulgularla uyumlu olarak dişi köpeklerde yaşın ilerlemesiyle AMH düzeyinde düşüş olduğu belirlenmiştir. Korkmaz ve ark. (14) tarafından yapılan çalışmada köpeklerde yaşla birlikte primordiyal ve primer folikül sayısının düştüğü, sekonder ve preantral foliküllerde granüloza hücre tabakasının azaldığı belirlenmiştir. Bu düşümlere paralel olarak yaşla beraber AMH düzeyi de azalmıştır. Dolayısıyla AMH düzeyinin insanlarda olduğu gibi köpeklerde de fertilité parametresi olarak kullanılabileceği bildirilmektedir.

Kedilerde AMH seviyesinin, özellikle genç kedilerde, ovariectomi sonrası toplanan oositlerin in vitro olgunlaşma potansiyeline sahip olup olmadığını tahmin etmek için yararlı bir araç olabileceği bildirilmektedir (11).

4. Sonuç

Sunulan derlemede tek bir serumdaki AMH düzeyinin analizinin kısırlaştırılan ve kısırlaştırılmayan hayvanların ayrımı, ovaryan kalıntının varlığı ve granüloza hücre tümörünün tespit edilmesinde faydalı bir tanı aracı olarak kullanıldığı hakkında bilgiler sunulmuştur. Literatür taramalarında serum AMH düzeyinin analizi amacıyla insan veya köpek bazlı ELISA kitlerinin kullanılabileceği fakat test türüne göre farklı AMH düzeylerinin belirlenebileceği bu nedenle test standardizasyonunun önemli olduğu bilgisine ulaşılmıştır.

Kaynaklar

1. Akbarinejad V, Gharagozlu F, Vojgani M, Ranji A. Evidence for quadratic association between serum anti-Müllerian hormone (AMH) concentration and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2020; 218: 106457. doi: doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106457.
2. Kereilwe O, Kadokawa H. Anti-Müllerian hormone and its receptor are detected in most gonadotropin-releasing-hormone cell bodies and fibers in heifer brains. *Domestic Animal Endocrinology* 2020; 72: 106432. doi: doi.org/10.1016/j.domaniend.2019.106432.
3. Mossa F, Jimenez-Krassel F, Scheetz D, Weber-Nielsen M, Evans ACO, et al. Anti-Müllerian hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction* 2017; 154: R1-R11. doi: 10.1530/REP-17-0104.
4. Jost A. The age factor in the castration of male rabbit fetuses. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1947; 66: 302-303.
5. Themmen APN, Kalra B, Visser JA, Kumar A, Savjani G, et al. The use of anti-Müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy status in dogs. *Theriogenology* 2016; 86: 1467-1474. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.05.004.

6. Holst BS. Diagnostic possibilities from a serum sample-Clinical value of new methods within small animal reproduction, with focus on anti-Müllerian hormone. *Reproduction Domestic Animals* 2017; 52 (Suppl.2): 303-309. doi: 10.1111/rda.12856.
7. Yagci IP, Pekcan M, Polat IM, Kalender H, Macun HC. Does serum anti-Müllerian hormone levels always discriminate presence of the ovaries in adult bitches? Comparison of two ELISA kits. *Reproduction Domestic Animals* 2016; 51: 910-915. doi: 10.1111/rda.12757.
8. Place NJ, Hansen BS, Cheraskin JL, Cudney SE, Flanders JA, et al. Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2011; 23: 524-527. doi: 10.1177/1040638711403428.
9. Songsasen N, Fickes A, Pukazhenthil BS, Wildt DE. Follicular morphology, oocyte diameter and localisation of fibroblast growth factors in the domestic dog ovary. *Reproduction Domestic Animals* 2009; 44 (Suppl.2): 65-70. doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01424.x.
10. Hollinshead FK, Walker C, Hanlon DW. Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reproduction Domestic Animals* 2016; 51 (Suppl.3): 1-6. doi: 10.1111/rda.12822.
11. Snoeck F, Sarrazin S, Wydooghe E, Soom AV. Age and anti-Müllerian hormone levels predict the success of in vitro maturation of cat oocytes. *Reproduction Domestic Animals* 2017; 52 (Suppl.2): 98-102. doi: 10.1111/rda.12827.
12. Walter B. Anti-Müllerian hormone in dogs and cats reproduction. *Reproduction Domestic Animals* 2020; 55 (Suppl. 2):26-31. doi: 10.1111/rda.13603.
13. Hollinshead FK, Walker C, Hanlon DW. Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reproduction Domestic Animals* 2017; 52 (Suppl.2): 35-40. doi: 10.1111/rda.12822.
14. Korkmaz Ö, Korkmaz D, Polat İM, Yağcı İP, Pekcan M, et al. Differences in the follicular morphology of young and aged bitches and their correlation with the anti-müllerian hormone. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016; 22: 733-739. doi: 10.9775/kvfd.2016.15306.
15. Alkan KK, Ceylan A, Alkan H, Ozen D, Bayraktaroglu AG, et al. Immunohistochemical and qPCR determination of the expression and serum level of anti-Müllerian hormone in pre-pubertal, intact and ovarian remnant syndrome detected bitches. *Reproduction Domestic Animals* 2019; 54: 979-986. doi: 10.1111/rda.13451.
16. Yağcı İP, Polat İM, Pekcan M. Evaluation of age related anti-Müllerian hormone variations in domestic cat. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016; 22: 729-732. doi: 10.9775/kvfd.2016.15288.
17. Walter B, Feulner H, Otdorff C, Klein R, Reese S, et al. Changes in anti-Müllerian hormone concentrations in bitches throughout the oestrous cycle. *Theriogenology* 2019; 127: 114-119. doi: https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.007.
18. Anadol E, Gultiken N, Yarim GF, Karaca E, Kanca H, et al. Investigation of diagnostic use of serum anti-Müllerian hormone concentration in dioestrus and anoestrus bitches before and after ovariohysterectomy and the relationship with ovarian follicle numbers. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2020; 23: 391-397. doi: 10.24425/pjvs.2020.134683.
19. Nagashima JB, Hansen BS, Songsasen N, Travis AJ, Place NJ. Anti-Müllerian hormone in the domestic dog during the anestrus to oestrous transition. *Reproduction Domestic Animals* 2016; 51: 158-164. doi: 10.1111/rda.12660.

20. Yılmaz ÖT, Toydemir TSF, Kirsan İ, Ucmak ZG, Karacam EC. Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches. *Veterinary Research Communications* 2015; 39: 159-162. doi: 10.1007/s11259-015-9639-0.
21. Alm H, Holst BS. Identifying ovarian tissue in the bitch using anti-Müllerian hormone (AMH) or luteinizing hormone (LH). *Theriogenology* 2018; 106: 15-20. doi: doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.028.
22. Axné E, Holst BS. Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology* 2015; 83: 817-821. doi: doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.11.016.
23. Heaps LA, Scudder CJ, Lipscomb VJ, Steinbach SML, Priestnall SL, et al. Serum anti-Müllerian hormone concentrations before and after treatment of an ovarian granulosa cell tumour in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports* 2017; 3 (2): 1-5. doi: 10.1177/2055116917722701.
24. Walter B, Coelfen A, Jäger K, Reese S, Meyer-Lindenberg A, et al. Anti-Muellerian hormone concentration in bitches with histopathologically diagnosed ovarian tumours and cysts. *Reproduction Domestic Animals* 2018; 53: 784-792. doi: 10.1111/rda.13171.
25. Gharagozlou F, Youssefi R, Akbarinejad V, Sasani F, Taghizadeh-Jahed M, et al. Evaluation of serum anti-Müllerian hormone (AMH) in a Persian queen cat with bilateral cystic ovarian disease. *Comparative Clinical Pathology* 2014; 23: 237-239. doi: 10.1007/s00580-013-1822-5.



Köpeklerin Parvovirüs Enfeksiyonunda Tedavi Uygulamalarına Güncel Yaklaşım

Ömer AYDIN¹, Akın KIRBAŞ²

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum/TÜRKİYE
²Yozgat Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Yozgat/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 09.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 22.10.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Aydın O, Kırbas A. Köpeklerin Parvovirüs Enfeksiyonunda Tedavi Uygulamalarına Güncel Yaklaşım. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):62-72.

Özet: Kanin parvoviral enteritis duyarlı köpeklerde yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden enteropatojenik bir hastalıktır. Hastalığa Kanin parvovirüs'ün (CPV) üç farklı alt suşu (CPV-2a, 2b ve 2c) neden olmaktadır. Enfeksiyon daha çok enfekte hayvanların dışkılarıyla kontamine olan gıdaların sağlıklı ve duyarlı hayvanlar tarafından ağız yoluyla alınması sonucu şekillenmektedir. Hastalık 6 aylıktan küçük olan yavru köpeklerde yüksek morbidite ve mortalite ile seyredilmektedir. Ayrıca immun sistemi çeşitli nedenlerle baskılanmış olan erişkin köpeklerde enfeksiyon ortaya çıkabilmektedir. Hastalığın tedavisinde sıvı sağaltımı, antibiyotik uygulamaları gibi semptomatik tedavilerin yanı sıra immun sistemin güçlendirilmesi için çeşitli ilaçlar veya bağışıklığı tetikleyen preparatlar kullanılmaktadır. Tedavinin yanında korunma açısından hijyen kurallarına uyulması, sağlıklı hayvanların hasta hayvanlardan izole edilmesi, aşılama prosedürlerine uyulması hastalığın önlenmesinde ve yayılımının azaltmasında son derece önemlidir. Bu derleme makalesi özellikle CPV enfeksiyonuna yönelik denenmekte olan farklı tedavi uygulamalarının sonuçlarına dikkat çekilmesini amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Aşılama, Kanin parvoviral enteritis, Tanı, Tedavi

Current Approach Treatment Practices in Canine Parvovirus Infection

Abstract: Canine parvoviral enteritis is an enteropathogenic disease with high morbidity and mortality rates in susceptible dogs. The causative agent of the disease is 3 different substrains of parvoviral enteritis (CPV-2a, 2b and 2c). Infection is mostly caused by the ingestion of food contaminated with the faeces of infected animals by healthy and susceptible animals. The disease can progress with high morbidity and mortality in puppies less than 6 months of age. In addition, infection may occur in adult dogs whose immune system is suppressed for various reasons in the treatment of the disease. In addition to symptomatic treatments such as fluid therapy and antibiotic applications, various drugs or preparations that trigger immunity are used to strengthen the immune system. In addition to treatment, it is extremely important to comply with the hygiene rules in terms of protection, isolate healthy animals from sick animals, and comply with vaccination procedures in preventing the disease and reducing its spread. This review article aims to draw attention to the results of different treatment applications that are being tried especially for CPV infection.

Keywords: Canine parvoviral enteritis, Diagnosis, Treatment, Vaccination

1. Giriş

Kanin parvovirüs (CPV) Protoparvovirüs cinsine ait olan Parvoviridae ailesinin bir üyesidir. CPV küçük, zarfsız ve tek sarmallı bir DNA virüsüdür. Filogenetik analizlerde CPV'nin kedi, gelincik, rakun, rakun köpeği, kutup tilkisinde enfeksiyon oluşturan virüsle ortak bir soydan geldiğine inanılmaktadır. Ayrıca feline panlökopeni virüs ile CPV virüs arasında DNA sekansı açısından %98 oranında benzerlik bulunmaktadır (1). CPV enteritis duyarlı köpeklerde yüksek derecede morbidite ve mortalite oranıyla seyreden enteropatojen viral bir hastalıktır (2). CPV enteritis aşılanmamış 6 ile 20 aylık yaştaki köpeklerde akut, bulaşıcı bir gastrointestinal enfeksiyona neden olmaktadır (3). CPV enteritis kanin parvovirüs tip-2 (CPV-2)'nin üç alt tipinin (CPV-2a, 2b, 2c) neden olduğu bir hastalıktır (2, 4). Bu hastalık viral partiküllerin inhalasyonu aracılığıyla direkt olarak veya hasta yavru köpekler tarafından enfekte dışkı ile

kontamine olan gıdaların ağız yoluyla alınması sonucu duyarlı hayvanlara geçebilmektedir. Ayrıca enfekte bir hayvanın gaitasıyla kontamine araç ve ekipmanlarla temas yoluyla da enfeksiyon etkenleri duyarlı hayvanlara bulaşabilmektedir (5). CPV-2'nin muhtemel bir şekilde diğer karnivor türlerindeki parvoviral etkenlerinin mutasyonu sonucu 1970'lerin ortalarında ortaya çıktığı ve dünya geneline hızlı bir şekilde yayıldığı varsayılmaktadır (6-8). CPV-2a, 2b ve 2c varyantının CPV suşuna göre daha fazla türde patojeniteye sahip olduğu bildirilmiştir (6). Hastalığın tipik klinik semptomları 6 aylık yaştan daha genç köpeklerde meydana gelmektedir. Ayrıca immun sistemi baskılanmış olan yetişkin köpeklerde hastalıktan etkilenebilmektedir (9, 10). CPV enteritis intestinal, kardiyak ve generalize hastalık olmak üzere 3 farklı formda şekillenebilmektedir. İntestinal form; lökopeni, kusma ve yaklaşık 8 aylık köpek yavrularında hemorajik diyarenin görüldüğü formdur. Kardiyak formda ise 3-8 haftalık yaştaki

yavru köpeklerde solunum ve kardiyovasküler yetmezlik sonucu nonsuppuratif miyokarditis ve ani ölümler görülebilmektedir. Hastalığın generalize formu ise 2 haftadan daha küçük yaştaki yavru köpeklerin dokularında fokal nekrozislerin şekillendiği form olarak nitelendirilmektedir (11). Bu derlemede özellikle CPV enfeksiyonuna yönelik denenmiş ve farklı tedavi uygulamalarının sonuçlarına dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

1.1. Predispozisyon faktörler

Hastalığa yatkın hale getiren predispozisyon faktörler koruyucu immunitenin eksikliği, hayvanların barınaklarda aynı kafeslerde bir arada bulunması ile hijyen kurallarına uyulmaması ve stresli çevre şartları olarak sıralanabilir (12). CPV enteritiste mevsimsel predispozisyon üzerine yapılan birçok araştırmada farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir. Yapılan çalışmalarda Houston ve ark. (13) hastalığın her mevsim görülebileceğini ancak temmuz-eylül arası aylarda hastalığın daha yaygın olduğunu, Mason ve ark. (14) ilkbahar aylarında hastalığın daha yaygın olduğunu, Castro ve ark. (15) Temmuz-Eylül ve Kasım-Aralık ayları arasında hastalığın daha yaygın olduğunu, Gisilanbe ve ark. (16) ise mayıs-haziran ayları arasındaki prevalansın daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Hastalığa karşı ırk predispozisyonu olarak Rottweiler, Doberman pinscher, Labrador, Alman çoban köpeği, American Staffordshire Terrier ve Alaska kızak köpek ırklarının CPV enteritise karşı duyarlı ırklar olduğu ifade edilmesine rağmen yakın zamandaki araştırmalarda ise ırk predispozisyonuna rastlanılmamaktadır (10, 17). Köpeklerde CPV enteritisin risk faktörlerinin araştırıldığı bir çalışmada ise hastalığın her mevsim görülebildiği, cinsiyet olarak erkek köpeklerde ve yaş olarak 2-4 aylık yaştaki yavru köpeklerde görülme insidansının daha yüksek, mortalite oranının %11.32 ve Erzurum ilinde yaygın olarak beslenen kangal ve kangal melezi köpeklerin hastalığa daha duyarlı oldukları belirtilmiştir (18).

2. Patofizyoloji

Enfekte hayvanların kusmuk ve dışkı içeriğindeki CPV-2'yi oral yolla alan immun sistemi zayıf olan köpeklerde enfeksiyon meydana gelebilmektedir. Virüs oral yolla alındıktan sonra ilk başta orofaringeal ve mezenterial lenf nodülleri, timusta replike olmaktadır. Enfekte hayvanlarda virüse maruz kaldıktan 1-5 gün sonra viremi şekillenmektedir (2). Daha sonra virüs bağırsak epitel kriptleri, kemik iliği, dil epiteli, oral kavite, kalp miyositleri ayrıca akciğer, dalak, karaciğer ve böbrekler gibi hücreleri hızlı bir şekilde bölünen organları etkilemektedir (19). Bağırsak cidarı etkilendiğinden dolayı bağırsak yüzeyinde kanamalar şekillenebilmekte ve bunun sonucunda kusma ve hemorajik bir diyare, nutrisyonel malabsorbsiyon, bakteriyel translokasyon şekillenebilmektedir. Timusta viral etkenlerin

yerleşmesi sonucu timusun korteksinde yıkımlanma oluşabilmektedir. Ayrıca kemik iliğinin etkilenmesi sonucu lökositlerin yıkımlanmasıyla lökopeni şekillenebilmektedir (8). İmmun sistemin bozulması sonucu bağırsak bakterileride sekonder olarak enfeksiyona katılır ve bu durumda da septik şok, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), çoklu organ yetmezliği ve ölüm meydana gelebilmektedir (20).

3. Klinik bulgular

CPV enteritisin klinik semptomları nonspesifiktir ve diğer enteritis bulgularına benzemektedir. En ortak şekilde görülen bulgular ise anoreksi, letarji, halsizlik, depresyon, mukoidten hemorajik görünüme kadar değişebilen kötü kokulu bir diyare, kusma, dehidrasyon ve vücut ısısı artışıdır (10, 21). İntestinal durgunluktan dolayı invaginasyon şekillenebilmektedir (22). Hastalığın miyokarditis formu uterusu ve postpartum ilk 2 hafta içerisindeki hızlı miyokardiyal proliferasyonun görüldüğü dönemde hastalığa yakalanan yavru köpeklerde şekillenebilmektedir (23). Hastalığın bu formunda yavru köpekler 24 saat içerisinde herhangi bir semptom göstermeksizin ölebilmektedir (2). Miyokarditis formuna sahip hayvanlarda dispne, inleme ve ölümden kısa bir süre önce öğürme hareketleri gözlenebilmektedir. Miyokarditis formunun orta şiddette seyrettiği yavru köpeklerde ise konjestif kalp yetmezliği semptomları şekillenebilmektedir (24). Ayrıca birçok köpekte zayıf bir prognoz eşlik ettiği SIRS şekillenebilmektedir. Subklinik enfeksiyon yetişkin ve aşılammış köpeklerde meydana gelebilmekte ve bazen de ölümlerle sonuçlanabilmektedir (10). Sekonder bulgular ise endotoksemi veya zarar görmüş bağırsak mukozasından bakteriyel enfeksiyonların kan sirkülasyonuna katılmasıyla şekillenebilmektedir. Endotoksemi proinflamatuvar sitokinler ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α)'nın kan dolaşımına katılması sonucu septiseminin yokluğunda bile oluşabilmektedir (25). Hipoglisemi ve dissemine intravasküler koagülopatiden (DIC) dolayı nörolojik bulgular şekillenebilmektedir. Kedilerde uterusu fetusun feline panlökopeni ile enfekte olması sonucu beyin dokusunda hasar rapor edilmesine rağmen aynı durumun CPV enteritisli köpeklerde nadir bir durum olduğu rapor edilmektedir (24).

4. Laboratuvar bulguları

4.1. Kardiyak profil

CPV enteritisli köpeklerin EKG' sinde küçük R dalgası, ST aralığında artış, ventriküler taşikardi belirlenmesi multifokal subakut miyokarditisle ilişkilendirilmektedir (26). CPV enteritiste yavru köpeklerde kalp kası etkilenebilmektedir ve bunun sonucunda miyokarditis ve ölüm şekillenebilmektedir. Kan laktat dehidrojenaz ve kreatin kinaz-MB (CK-MB)'nin miyokarditisin belirlenmesinde önemli biyomarkırlar olduğu bilinmektedir (27). CPV

enteritisli köpeklerde kardiyak biyomarkır düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada CPV enteritisli köpeklerde serum CK-MB ve beyin natriüretik peptik seviyelerinde artış, kardiyak troponin-I (cTn-I) seviyelerinde ise önemli bir farklılığın şekillenmediği belirtilmiştir (28). CPV enteritisli köpeklerde cTn-I düzeylerinin araştırıldığı başka bir çalışmada cTn-I düzeyinin 0.8 ng/mL'den yüksek olduğu durumlarda CPV'ye bağlı yaşama oranının düşük ve prognozun kötü olduğu bildirilmiştir (29). CPV enteritisli köpeklerde iki boyutlu ekokardiyografi (spekle tracking ekokardiyografi) ile kalbin sistolik fonksiyonlarının incelendiği bir çalışmada hastalığın şiddetinin arttıkça gerilim (ST) ve gerilim oranı (SR) değerlerinin düştüğü ve özellikle CPV enteritisten ölen köpeklerde en düşük SR değerinin çevresel eksendeki orta septal epikardiyal segmentte gözlemlendiği belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda CPV enteritisli köpeklerde ST ve SR değerlerinin belirlenmesinin ventriküler hemodinamik durumu değerlendirmek, prognoz hakkında daha iyi bilgi edinebilmek ve uygun terapötik stratejiler geliştirmek adına önem arz ettiği belirlenmiştir (30).

4.2. Hemato-biyokimyasal profil

CPV enteritiste geçici bir lenfopeniye ek olarak total lökosit sayısının düşmesi en çok görülen hematolojik bulgular arasındadır (31). Genel durumu kötü olan hayvanlarda sağ kalan hayvanlara nazaran daha düşük total lökosit, nötrofil, band nötrofil, lenfosit ve eozinofil sayısı belirlenmektedir (14,32). Anemi intestinal hemoraji ve rehidrasyon tedavisinin etkisinden dolayı hastalığın şiddetli seyrettiği durumlarda hastalığın son aşamasında görülebilen bir durumdur (33). Biyokimyasal bulgular CPV enteritiste nonspesifiktir. Hastalığa bağlı olarak anoreksi, kusma ve diyareten dolayı yoğun hipokalemi şekillenebilmektedir. CPV enteritiste hiponatremi ve hipokloremiye kusma ve diyareten dolayı rastlanılmaktadır (34). Serum elektroforezde göreceli ve absöüt hipoalbuminemi, hipogamaglobulinemi, hiperalfa-2-globulinemi şekillenebilmektedir. Serum protein seviyelerindeki düşüklüğün sebebinin ise protein kayıplı enteropati, intestinal hemoraji, SIRS aracılı vasküler permeabilite, rehidrasyon terapisine bağlı olarak oluşabildiği belirtilmektedir (35). 12 ile 24 saat içerisinde yüksek C reaktif protein (CRP) seviyesi ise mortalite oranındaki artışla ilişkilendirilmektedir (36, 37). CPV ile enfekte köpeklerde serum total kolesterol seviyesi ve yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyesinde düşme görülmesi, trigliserid seviyesinde artışın şekillenmesi CPV enteritisin şiddetinin bir markırı olarak kullanılabileceği ifade edilmektedir (38). CPV ile doğal enfekte köpeklerde sağlıklılara göre belirgin bir lökopeni, nötropeni, hipoalbuminemi ve CK-MB, intestinal yağ asidi bağlayıcı protein-2 (IFABP-2), seruloplazmin ve kortizol seviyelerinin daha yüksek ancak laktat dehidrojenaz, triiyodotironin ve

tiroksin seviyelerinde ise farklılığın olmadığı belirtilmiştir. Tedavinin 72. saatinde total lökosit ve nötrofil sayılarında azalma, CK-BM, IFABP-2, seruloplazmin ve kortizol seviyelerinde ise artış şekillenmesinin hastalıkta prognostik açıdan önemli bir indikatör olduğu bildirilmiştir (39).

Schoeman ve Herrtage yaptıkları çalışmada CPV enteritisin başlangıcından 24 ve 48 saat sonrası yüksek serum kortizol düzeyi ile düşük tiroksin konsantrasyonunun mortalite oranını artırıcı faktörler olarak ifade etmişlerdir (40). CPV enteritisli köpeklerde intestinal ve kardiyak ilişkili biyomarkırların araştırıldığı bir çalışmada CPV enteritisli köpeklerde kontrol grubuna göre kan gazı hidrojen iyon konsantrasyonu, parsiyal oksijen basıncı, sodyum, bikarbonat, oksijen saturasyon seviyeleri ve total lökosit sayısında azalma şekillendiği, intestinal yağ asidi bağlayıcı protein-1, trefoil faktör-3, claudin-3, kalp tipi yağ asidi bağlayıcı protein, cTn-I ve CK-MB düzeylerinde ve trombosit sayılarında ise artışın şekillendiği ifade edilmiştir (41).

CPV enteritisli köpeklerde bazı kan parametrelerinin prognostik açıdan öneminin araştırıldığı bir çalışmada total lökosit, lenfosit sayılarının hasta köpeklerde sağlıklılara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Hastalıktan ölen köpeklerin sağlıklılarla karşılaştırıldığında total lökosit, lenfosit, monosit, granülosit sayılarının daha düşük olduğu, üre ve kreatinin, cTn-I ve TNF- α değerlerinin ise daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada lökosit, lenfosit, granülosit ve monosit sayıları, cTn-I ve TNF- α değerlerinin CPV enteritisli köpeklerde prognoz belirlenmesinde önemli olduğu ifade edilmiştir (42).

Coronavirüs ve CPV'li köpeklerde hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırıldığı bir çalışmada CPV negatif köpeklere göre CPV pozitif köpeklerde hematolojik parametre olarak lökopeni, lenfopeni, trombositopeni belirlenmişken, biyokimyasal olarak ise hipoproteinemi ve hipoglisemi şekillendiği ifade edilmiştir (43). CPV enteritisli köpeklerde sitokin ve akut faz cevabının düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CPV'li köpeklerin kan serumunda İnterlöykin-1 beta, TNF- α , İnterferon gama, CRP, Serum amiloid A, fibrinojen ve Protein C (PC) seviyelerinde istatistiksel olarak önemli artışların şekillendiği belirtilmiştir (44).

Panda ve ark. (45) artmış lipid peroksit seviyelerine bir kanıt olarak eritrosit oksidatif stres insidanslarının önemli bir şekilde yükseldiğini belirtmişlerdir. Ayrıca antioksidan süperoksit dismutaz enzim sisteminin yapısına katılan çinko düzeyinde de CPV enteritiste bir düşüş görüldüğü ifade edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada CPV enteritisli köpeklerin sağlıklı köpeklere nazaran sitrülün seviyelerinin ciddi anlamda daha düşük (%93 oranında) olduğu bildirilmiş fakat bu düşük değer sağ kalma ve ölüm oranı açısından

anamlı bir prognostik değer oluşturmadığı belirtilmiştir (32).

4.3. Koagülasyon profili

DIC olmaksızın hiperkoagülapatinin varlığı CPV ile enfekte yavru köpeklerde belirtilmektedir. Bu durumunda endotelial hücreler üzerinde sitokin temelli prokoagülan etki veya endotoksemiden dolayı oluşabileceği varsayılmaktadır. Endotoksin ile ilişkili koagülasyonun sonucu olarak antitrombinlerin tüketilmesine ilaveten gastrointestinal yol aracılığıyla antitrombin kaybı ve hiperfibrinojemi CPV enteritiste görülen hiperkoagülopatiye neden olabilmektedir (46). CPV enteritisli köpeklerde koagülasyon profilinin araştırıldığı bir çalışmada, enfekte köpeklerde plazma protrombin (PT) ve aktive edilmiş parsiyel tromboplastin (APTT) sürelerinde uzama, fibrinojen ve D-dimer düzeylerinde artış ve antitrombin III düzeyinde ise azalmanın şekillendiği bildirilmiştir (28).

5. Tanısal görüntüleme

CPV enteritisle etkilenmiş köpeklerde tanısal görüntüleme bulguları nonspesifiktir. Hastalığın erken aşamalarında abdominal radyografi bulguları normal olabilir ancak daha sonra ince bağırsakların sıvı ve gaz ile dolması sonucu ileus belirtileri görülebilmektedir (47). Yapılan bir çalışmada CPV enfeksiyonuna sahip 40 adet köpekte ultrason bulgularının nonspesifik olduğu ve mide, ince ve kalın bağırsağın tüm alanlarında gaz ve sıvı birikiminin sonucuyla hacimsel olarak artış, ileus, aneikoik karakterde peritoneal efüzyon, hiperekoik sınırları olan bir duodenum görülmektedir. Ultrasonografinin ise gastrointestinal yabancı cisimler, obstrüksiyon, invaginasyon gibi kusma ve diyarenin diğer sebeplerinin eradikasyonunda son derece etkili bir tanı yöntemi olduğu bilinmektedir (48).

6. Nekropsi bulguları

Nekropsi bulguları CPV enteritis enfeksiyonunun tanısında yardımcı olabilen bir metottur. CPV enteritisten ölen köpeklerin bağırsaklarının serozal yüzeylerinde bozulma, kalınlaşma ve renk değişiklikleri mevcuttur. Bu değişiklikler hastalığın erken aşamasında ölen hayvanlarda distal duodenumda görülürken, şiddetli semptomlar göstererek ölen hayvanlarda ise jejunum mukozasındaki değişiklikler daha bariz olarak görülebilmektedir. Hastalığın kesin tanısı histopatolojik ve immünofloran doku testleriyle doğrulanmalıdır (24). Nekropside kalpte dilatasyon, solgun renkte bir miyokardiyum, miyofiberlerin kaybı ve miyozitlerin lizisi görülebilmektedir. Neonatal dönemde hastalıktan kurtularak ileri yaşlarda ölen köpeklerde ise miyokardiyumda kalınlaşma ve skar dokusu oluşabilmektedir (49). Morner ve ark. (50) CPV enteritisli köpeklerin nekropsisinde makroskopik bulgu olarak ileum ve jejunum mukozasında pseudomembranla kaplı hemorajik bir enteritisin varlığını belirlemişlerdir. Abdomenin küçük

miktarlarda hemorajik transudatla kaplı olduğu ifade edilmiş ve bağırsakların dilate, sulu mukus ve kan ihtiva ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca mezenterik lenf nodüllerinin genişlediğini, konjesyone ve ödematoz olduğunu, timusun da atrofiye olduğu belirtilmiştir. CPV enteritisli köpeklerin miyokarditis formunun patolojik olarak incelendiği bir çalışmada, ölen dört köpekte asites, mukoz membranlarda solgunluk şekillendiği belirtilmiştir. CPV enteritisten ölen üç köpekte ise makroskopik bulgu olarak pulmoner ödem, kalbin sağ ve sol taraflı ventriküllerinin dilatasyonu, sol ventrikülün miyokardında ince soluk beneklenme tarzında nekroz alanları, hidroperikardiyum ile toraks ve abdomende ise sarı renkli bir sıvının biriktiği belirtilmiştir (51). CPV enteritisli köpeklerde kalp biyomarkörleri ve pıhtılaşma profilleri üzerine yapılan bir tez çalışmasında ölen hayvanların makroskopik muayenesinde kalbin apeksinde ve epikartta solgun alanlar, histopatolojik muayenesinde ise myozit nekrozu, intranükleer inklüzyon cisimciği ve fokal non-prulent miyokarditis bulgularının belirlendiği bildirilmiştir (52).

7. Tanı

CPV enteritisin hızlı tanısında ELISA antijen snap testler ticari olarak mevcuttur. Bu testlerin duyarlılığı bir çalışmada CPV-2a, 2b ve 2c altiplerine göre sırasıyla %80.4, %78.0 ve %77.0 olarak belirlenmiştir (53). Hastalığın başlangıç aşamasında viral saçılım düşük olabileceğinden dolayı bu zamanda yapılan ELISA testleriyle yapılan analizler yanlış negatif sonuçlar verebilmektedir. Böyle durumlarda hastalıktan şüphe edilmesi durumunda test tekrarlanmalıdır. Ayrıca modifiye canlı CPV aşılı ile aşılanan köpeklerde aşılama sonrası 5-15 gün arasında yanlış pozitif sonuçlar belirlenebilmektedir (54). Şayet CPV enteritisten şüphelenilmesi ve ELISA testi sonucunun negatif çıkması durumunda moleküler yöntem olarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) testleri önem arz etmektedir. PCR, köpek dışkıında düşük yoğunlukta bulunabilen etkenleri belirleyebilecek yüksek duyarlılığa sahiptir (55).

8. Ayırıcı tanı

CPV enteritis kanin distemper hastalığı, diğer viral enteritisler, hemorajik gastroenteritis, salmonellozis, akut pankreatitis, hipoadrenokortizm, yangısal bağırsak hastalığı, bağırsak invaginasyonu, gastrointestinal yabancı cisimler ve çeşitli intoksikasyon durumlarıyla benzer klinik bulgular göstermektedir. Bu yüzden CPV enteritisin tam olarak tanısı klinik ve klinik-patolojik durumların birlikte değerlendirilmesi ile birlikte virüs antijenlerinin belirlenmesi veya dışkıda virüsün PCR ile tespit edilmesini kapsamaktadır (4).

9. Prognoz

Parvoviral enteritiste prognoz tedaviye başlanan zamandaki klinik bulguların şiddetine göre değişebilmektedir.

Hipovolemi, kan sirkülasyonundaki kötü perfüzyon, sürekli artış gösteren vücut ısısı, düşük PC seviyesi, artan kortizol seviyesi, düşük tiroksin seviyesi, 1000 μL ' den daha düşük olan lenfosit sayısı, hipoalbumeni gibi durumlarda mortalite oranları yüksek ve dolayısıyla prognoz zayıftır (10). Kanin parvovirüsle birlikte eş zamanlı bir paraziter enfestasyon varlığında mortalite oranını artırmakta ve prognozu kötü bir şekilde etkilemektedir (20). Ayrıca artış gösteren TNF- α konsantrasyonu CPV enteritiste mortalitenin önemli bir göstergesi olarak gösterilmektedir (56). Goddard ve ark. (57) iyi prognoz göstergesi olarak; köpeklerin melez ırka sahip olması, 6 aylık yaştan büyük olması ve 24 saat içerisindeki kan bulguları olarak total lökosit sayısının $>4.5 \times 10^3/\mu\text{L}$, lenfosit sayısının $>1 \times 10^3/\mu\text{L}$, olgun nötrofil sayısının $>3 \times 10^3/\mu\text{L}$ olmasının %100 sağ kalma oranı olarak ifade etmişlerdir. Schoeman ve ark. (58) tarafından da ilk 24 saat içinde CPV enteritisli köpeklerde kan serumunda tiroksin konsantrasyonunun $> 2.8 \text{ nmol/L}$, HDL kolesterolün $>1.3 \text{ mmol/L}$ seviyelerinde olmasının sağ kalma oranını %100'e çıkaran değerler olduğunu belirtmişlerdir. CPV enteritisli köpeklerde prognostik indikatör düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada, negatif prognostik indikatör olarak hematokrit değerinde ve kan glikoz konsantrasyonunda azalma ve total magnezyum konsantrasyonunda artış belirtilmiştir (59).

10. Tedavi yöntemleri

CPV enteritisin tedavisinde birçok tedavi denemesi yapılmış ve hastalığın şiddetini ve hospitalizasyon süresini azaltmada insan rekombinat granülosit kloni stimülasyon faktör (60), at antiendotoksin (61), rekombinant bakteriyel/ permeabilite artırıcı protein (62), oseltamivir (63) ve interferon (64) kullanılmıştır.

10.1. Sıvı-elektrolit tedavisi

Asit-baz ve elektrolit dengesizliklerine ilaveten hidrasyon ve onkotik basıncın dengelenmesi CPV enteritisin tedavisinde önemli bir kısmı oluşturmaktadır. Aşırı dehidre hayvanlarda kan sirkülasyonu bozulduğu için subkutan sıvı uygulaması yerine venöz veya intraosseöz sıvı uygulaması sıvı tedavisinin etkinliği açısından son derece önemlidir (65). Şiddetli hipovolemiye sahip köpek yavrularının 1-2 saat içinde dolaşım hacmi yeniden sağlanmalıdır. Genel bir kural olarak mukozal kanlanmayı ve kapiller dolum zamanını fizyolojik değerlerine getirmek, kalp ritmini, arteriyel basıncı ve laktat düzeyini dengelemek için ilk seçilecek dengeli kristaloid bir solüsyon karakterinde olan (örneğin laktatlı ringer gibi) bir sıvı olmalıdır. Köpeklerde şok dozu 80-90 ml/kg dozda 15 dakikanın üzerinde 15-20 ml/kg dozda ardışık bir şekilde kristaloid infüzyonunu içermektedir (66). Hesaplanan şok dozunun yarısı verildiği halde önemli bir ölçüde rehidrasyon sağlanmaz ise bu sefer ilave olarak kristaloid solüsyonlara kolloid sıvıların eklenmesi gerekmektedir. Hipovolemik şoku olmayan

köpeklerde dehidrasyonun 12-24 saat içerisinde restore edilmesi amaçlanmalıdır. Günlük toplamda alınması gerekli olan sıvı miktarı ise; günlük kilogram canlı ağırlık için 40-60 ml alınacak miktar, sıvı kaybı: Vücut ağırlığı (kg) X % dehidrasyon: kaybedilen sıvı hacmi (litre) ve devam eden kayıpların (ortalama 250 ml) toplamının 24 saat içerisinde uygulanmasını içermektedir. CPV enteritiste büyük miktarlarda protein kayıpları şekillenebilmektedir. Periferik ödem (subkutan, konjunktival, pleural veya abdominal efüzyon), hipoalbuminemi ($< 2 \text{ g/dL}$) veya hipoproteinemi ($< 4 \text{ g/dL}$) şekillendiği zaman kolloid bir sıvı desteğinin sağlanması gerekmektedir (67). Sentetik kolloidlerin von Willebrand faktör, faktör VIII ve trombosit fonksiyonlarını bozabileceği, ayrıca kanama eğilimini artırabileceği bildirilmesine rağmen hayvanlarda günlük alınacak dozun 20 ml/kg'ı geçmediği takdirde olumsuz durumların şekillenmeyeceği ifade edilmiştir (68). İnsan ve köpek albümini onkotik basıncı artırmak için kullanılabilir ancak onun etkinliği henüz tam olarak kanıtlanamamıştır. 20 ml/kg dozda 4 saat içerisinde tam kan ya da paketlenmiş kırmızı kan hücreleri yoğun anemi durumlarında tercih edilmesi gereken uygulamalardır (69). Hipokalemi CPV enteritiste sıklıkla karşılaşılan bir durumdur ve halsizlik, ileus, kalpte ritim bozukluğu ile kendini gösterir (10). Hipokalemi durumunu düzenlemek ve normokalemi oluşturmak için verilecek sıvı içerisinde $\geq 20 \text{ mEq/L}$ dozda potasyum hidroksit ilavesi yapılabilir. Verilecek potasyum 0.5 mEq/kg/saat miktarını aşmamalıdır (70). Hipoglisemi özellikle küçük ırk köpeklerde yoğun bir şekilde görülen komplikasyondur. Böyle durumlarda günde en az iki kez glikoz ölçümü yapılmalı ve glikoz seviyesi düştüğü durumlarda %2.5-5'lik dekstroz solüsyonları kullanılmalıdır (10).

10.2. Antimikrobiyal tedavi

Antimikrobiyal ilaçlar veya ilaç kombinasyonları hem gram negatif bakteriler hem de anaerobik bakterileri bertaraf etmek için kullanılmaktadır. CPV enteritisin semptomatik tedavisinde antibiyotik olarak enjektabl ampisilin veya sefazolin birçok köpek için yeterli olabilmektedir. Ancak köpeklerde hemorajik diyare veya SIRS belirtileri olduğu zaman ise penisilin+ florokinolon veya penisilin+ aminoglikozid kombinasyonlarının kullanılması tavsiye edilmektedir (4). CPV enteritisin tedavisinde iki farklı tedavi prosedürünün karşılaştırıldığı bir çalışmada grup-1 Haemaccel®+ Ciprofloxacin®, grup-2 ise tam kan ve metronidazol tedavisi olacak şekilde 2 gruba ayrılmıştır. Ayrıca her iki gruba sekonder enfeksiyonları önlemek için destek tedavisi de eklenmiştir. Çalışmanın sonucunda grup-1' deki prosedüre göre iyileşme oranının %50 oranında olduğu belirtilirken, grup-2'deki oranın ise %75 olduğu bildirilmiştir (71). CPV enteritiste antibiyotik ve destek tedavisinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 27 adet CPV enteritisli köpeğe sefotaksim 25 mg/kg dozda intravenöz

(İV) 5 gün, metoklopramid 0.2 mg/kg dozda İV 3 gün, ranitidin 0.5 mg/kg İV 3 gün süreyle uygulanmıştır. Ayrıca destekleyici olarak laktatlı ringer solüsyonu ve % 5 dekstroz karışımı da hayvanların dehidrasyon durumuna göre ayarlanarak verilmiştir. Araştırmanın sonucunda 27 adet köpeğin 24'ünde tedavinin başarılı bir sonuç verdiği bildirilmiştir (12). CPV enteritisli köpeklerde 2 farklı tedavi yönteminin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada grup-1'deki hayvanlara levofloksasin etken maddeli antibiyotikle birlikte destek tedavisi olarak antiemetik, B kompleks vitaminler ve sıvı tedavisi uygulanmıştır. Grup-2'deki köpeklere ise antibiyotik olarak seftriakson etken maddeli antibiyotik ile birlikte aynı destek tedavisi verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında levofloksasin verilen grup-1'deki tedavinin etkinliğinin daha iyi olduğu bildirilmiştir (72).

10.3. Antioksidan tedavi

CPV enteritisin tedavisinde destekleyici tedaviye ek olarak N-asetilsisteinin (NAC) etkisinin araştırıldığı çalışmada sağlıklı gruba göre CPV enteritisli köpeklerde belirgin bir şekilde hemokonsantrasyon, lökopeni, nötropeni ve oksidatif stresin arttığı ifade edilmiştir. NAC alan grupta ise sadece destek tedavisi alan gruba göre zamanla lökosit, nötrofil, monosit ve eozinofil sayılarında belirgin bir düzelmenin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada NAC alan grupta glutasyon S transferaz aktivitesinin arttığı, nitrik oksit ve malondialdehit konsantrasyonunun ise belirgin bir şekilde düştüğü bildirilmiştir (73). CPV enteritisli köpeklerin tedavisine yönelik yapılan çalışmada antibiyotik tedavisine ek olarak vitamin C ile NAC'ın tedaviye eklendiği gruptaki köpeklerde sadece antibiyotik alan köpeklere nazaran hemato-biyokimyasal parametrelerde daha hızlı bir düzelmenin şekillendiği bildirilmiştir (74).

10.4. İmmunterapi

CPV enteritisli köpeklerin tedavisinde hiperimmün plazmanın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada hiperimmün plazma alan grupta daha düşük şok indekslerinin şekillendiği, plazma laktat konsantrasyonunun plasebo grubundan daha düşük düzeyde olduğu bildirilmiştir (75). CPV enteritisli köpek yavrularında fekal mikrobiyaya transferinin tedavideki etkinliğinin araştırıldığı çalışmada standart tedaviye ek olarak fekal mikrobiyaya uygulanan hayvan grubunda diyarenin daha kısa sürede düzeldiği ve daha kısa hospitalizasyon zamanının olduğu bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada mortalite oranının standart tedaviye göre ek olarak fekal mikrobiyaya uygulanan grupta daha düşük seyrettiği ifade edilmiştir (76). Kumar ve ark. (77) tarafından CPV enteritisli köpeklerde farklı tedavi prosedürlerinin etkinliğini karşılaştırdıkları bir çalışmada destek tedavisiyle birlikte aminoasit takviyesi alan gruptaki iyileşme oranının destek tedavisi ve destek tedavisine ek olarak immün plazma alan gruba göre daha yüksek olduğu ve 3 gün içerisinde bu gruptaki hayvanların hepsinde

iyileşme şekillendiği belirtilmiştir. CPV enteritisin tedavisinde heterojen immunglobulin Y (Ig Y)'nin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada Ig Y'nin 6 gün süresince verildiği ve 7. günde Ig Y verilen köpeklerin hepsinin iyileştiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda CPV enteritisli köpeklerin tedavisinde Ig Y'nin etkili olduğu belirtilmiştir (78). Kotb ve Abdel Aziz (79) CPV enteritiste hiperimmün serumun etkisini araştırdıkları bir çalışmada hastalığın erken aşamasında hiperimmün serumun uygulanmasının hastalığı tedavi etmede ve önlemede etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Rishikesavan ve ark. (80) CPV enteritisli bir köpekte destek tedavisine ilave olarak CPV enteritise karşı spesifik immunglobulinin kullanılmasının hastalığın şiddetini azalttığını ve klinik belirtileri iyileştirdiğini rapor etmişlerdir. CPV enteritisli köpeklerde probiyotik bakterilerinin terapötik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada semptomatik tedaviye kıyasla semptomatik tedaviye ek olarak probiyotik tedavisi başlanan (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii spp bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* ve *Streptococcus salivarius spp thermophilus*) grupta daha yüksek bir sağ kalma oranı (%90) elde edildiği, lökosit ve lenfosit sayılarının semptomatik tedavi grubuna göre daha hızlı bir şekilde düzeldiği ve probiyotik ilavesinin iyileşme zamanını kısalttığı bildirilmiştir (81). CPV-2a suşuna karşı parvoviral aşuların ve PIND-ORF'un etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada orf virüsünün etkisiyle yavru köpeklerin aşılınması sonrası 1-2 hafta içinde immün yanıtın arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda CPV-2a tipine karşı aşular ile birlikte PIND-ORF kullanımının yavru köpeklerde önemli bir koruma sağladığı sonucuna varılmıştır (82). Meunier ve ark. (83) deneysel olarak CPV ile enfekte olan köpeklerde CPV hiperimmünplazmanın uygulanmasıyla kusma ve diyare insidansının azaldığını ve sağ kalma oranının yükseldiğini bildirmişlerdir.

10.5. Sitokin tedavisi

CPV enteritisli köpeklerde kanin granülosit koloni stimülasyon faktörünün (rcG-CSF) lökosit sayıları üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada rcG-CSF kullanılan grupta total lökosit sayılarında artış şekillendiği, bununda lenfosit ve monosit sayılarındaki artışla kendini gösterdiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada rcG-CSF uygulanan grupta nötrofil sayılarında ise belirgin bir artış şekillenmediği belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda ise rcG-CSF'nin hematolojik parametreler üzerinde iyileştirici özelliğinin olduğu kanaatine varılmıştır (84). de Mari ve ark. (64) doğal olarak CPV enteritise yakalanmış 94 adet köpek üzerinde yaptıkları bir çalışmada günde 1 kez 3 gün süreyle 2.5 MU/kg dozda İV yolla feline interferon omega uygulanan grupta klinik bulguların şiddetinin ve mortalite oranının plasebo grubuna göre önemli bir şekilde azaldığını belirtmişlerdir. CPV

enteritisli köpeklerin feline interferon omega ile tedavisine yönelik yapılan başka bir çalışmada interferonun 2.5 MU/kg dozda İV yolla uygulanmasıyla CPV enteritise bağlı ateş, kusma, diyare semptomlarının ve mortalite oranının azaldığı ve iştahın arttığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada plasebo grubuna göre CPV enteritise bağlı klinik bulguların ciddi anlamda düzeldiği ve ölüm oranının daha düşük olduğu bildirilmiştir (85). Duffy ve ark. (86) CPV enteritisli köpeklerde rcG-CSF'nin lökositler üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada rcG-CSF ile tedavi edilen köpeklerde bu sitokin ile tedavi edilmeyen gruba göre total lökosit ve nötrofil sayılarının önemli bir oranda daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca hospitalizasyon süresinde rcG-CSF ile tedavi edilen köpeklerde tedavi edilmeyenlere göre daha kısa süreli olduğu bildirilmiştir.

10.6. Antiviral tedavi

Schaudien ve ark. (87) CPV enteritisli köpeklerde oseltamivirin 2 mg/kg dozda peros 5 gün süreyle kullanılmasının çalışmadaki plasebo grubuna göre vücut ağırlığındaki kayıpları ve ayrıca hematolojik parametrelerdeki patolojik durumu düzelttiğini bildirmişlerdir. CPV enteritis üzerine asiklovirin profilaktik etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada asiklovir verilen gruptaki köpek yavrularında rektal svap örneklerinde CPV replikasyonunun bulunmamasıyla asiklovirin tedavide etkili bir antiviral olduğu belirtilmiştir (88). CPV enteritis üzerine antiviral ilaçların inhibitör etkilerinin araştırıldığı çalışmada Nitazoksanit, Closantel Sodyum ve Closantel'in CPV replikasyon sürecini hızlı bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu ilaçların Western blot testinin sonucunda üç CPV varyantının farklı alt tipleri karşısında geniş bir antiviral özelliğinin olduğu belirtilmiştir (89). Savigny ve Macintire (63), CPV enteritisli köpeklerde oseltamivirin 2 mg/kg dozda 5 gün süreyle peros yolla kullanılmasının plasebo grubuyla karşılaştırıldığında hospitalizasyon ve sağ kalma durumu üzerine belirgin bir faydalı etkisinin olmadığı halde kaybolan vücut ağırlığını ve de hematolojik parametreleri güçlendirdiğini bildirmişlerdir.

10.7. Antiemetik tedavi

CPV enteritisli köpeklerde şekillenen kusmanın önlenmesinde metoklopramid, ondansetron ve maropitantın karşılaştırmalı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada CPV enteritise bağlı kusmanın sıklığını ve yoğunluğunu azaltmada üç antiemetik ilacında eşit bir şekilde etkili olduğu bildirilmiştir (90). CPV enteritisli köpeklerin tedavisinde ondansetron ile maropitantın etkinliğinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada iki antiemetik arasında hospitalizasyon süresi, antiemetik kullanım sıklığı, kusma durumu ve iştahın tekrar düzelmesi gibi parametrelerde herhangi bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda CPV enteritisli köpekler ile ilişkili klinik belirtilerde maropitant ile ondansetronun eşit bir şekilde

etkili olduğu belirtilmiştir (91). De La Puente ve ark. (92) çeşitli farklı hastalık durumlarından dolayı kusan köpeklerin tedavisinde günde 2 veya 3 kez kullanılan metoklopramide göre tek doz kullanılan maropitantın kusmayı azaltmada daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yine çeşitli etiyojiye sahip köpeklerde kusmanın tedavisinde maropitant kullanılan bir çalışmada plasebo uygulanan gruba göre maropitant uygulanan gruptaki köpeklerde kusmanın önemli ölçüde azaldığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada köpeklerde çeşitli enfeksiyon durumu hallerinde maropitantın güvenli ve etkili bir ilaç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (93).

10.8. Enteral besleme

CPV enteritisli köpeklerin peros yolla nutrisyonel tedavisi destek tedavisinde son derece önemli bir basamağı oluşturduğu ifade edilmektedir. Enteral besleme stratejisi mukozal bütünlüğü sağlamada ve hasarı gidermede ve sonuç olarak bakteriyel kontaminasyonu önlemede önemli bir yöntemdir (22, 25). Mohr ve ark. (94) şiddetli CPV enteritisli köpeklerde enteral beslemenin etkilerini araştırdıkları bir çalışmada 12 saat süresince kusma kesilinceye kadar gıda verilmeyen gruba kıyasla 12 saat süresince belirli periyotlarda nazoözafagal besleme yapılan köpeklerde besleme sonrası klinik bulgularda daha erken bir düzelmeye, önemli bir şekilde ağırlık kazancı, bağırsak bütünlüğünün daha iyi bir şekilde korunduğu belirtmişlerdir.

11. Korunma

Köpeklerde seyreden subklinik enfeksiyon özellikle kalabalık alanlarda ve temizlik kurallarına uyulmayan barınaklarda diğer köpekler için bir bulaş kaynağı oluşturmaktadır (95). Bulaş alanlarının %0.75'lik dilüe sodyum hidroklorit solüsyonu ile dezenfekte edilmesi CPV enteritisin yayılmasını önlemek açısından son derece önemlidir (96). Hastalığı önlemenin en etkili yöntemi sağlıklı olan yavru köpeklerin hastalardan izolasyonudur. Hayvan sahiplerine hastalığın yetişkin hayvanlardan yavru köpeklere geçebileceği bilgisinin verilmesi hastalığın yayılımını önlemede oldukça önemlidir. Hayvanların toplu bakımının yapıldığı yerlerde çalışan personelin kullandığı malzemelerin belirli periyotlarda dezenfeksiyonu ve hijyen kurallarına uyulması hastalığın sağlıklı hayvanlara bulaşmasını önlemede son derece önemlidir (20).

Her yaş ve ırktan köpek CPV ile enfekte olabilmesine rağmen en duyarlı yaş aralığı 6-16 haftalık yavru köpeklerdir (69). Yakın zamandaki bir çalışmada 20 haftalıktan daha küçük yaşta yavru köpeklerin inaktif aşılama programının modifiye canlı aşılara nazaran daha düşük bir immunité gösterdiği ifade edilmiştir (97). Güncel aşılama programı modifiye canlı aşılama programı 6. haftada başlatılması ve 3-4 hafta aralıklarla 16. haftaya kadar devam ettirilmesi şeklinde tavsiye edilmektedir. Özellikle barınak gibi yoğun enfeksiyonun görüldüğü yerlerde ise aşılamanın 4. haftada başlatılması ve 18-20 haftaya kadar 3-4 hafta

aralıklarla devam ettirilmesi tavsiye edilmektedir (98). Tekrar aşılamanın 1 yaşında uygulanması ve bundan sonrada her 3 yılda bir tekrar aşılama yapılması önerilmektedir (20).

12. Sonuç

CPV enteritis morbidite ve mortalite oranı yüksek, bulaşıcı ve özellikle yavru köpekleri etkileyen bir hastalıktır. Sağaltımda semptomatik tedavinin yanı sıra immün sistemin immunomodülatörler, sitokinler, interferonlar ve antioksidan maddeler, enteral besleme ile desteklenmesi bu hastalıktan dolayı oluşabilecek mortalite oranını önemli oranda azaltmaktadır. Tedavinin yanı sıra hastalıktan korunma önemini korumaktadır. Bunun için kalabalık ve farklı yaşta köpek popülasyonunun bir arada bulundurulmasından kaçınılması, hijyen kurallarına uyulması, sağlıklı hayvanların hasta hayvanlarla bir arada bulundurulmaması, iç parazit uygulamaları ve CPV enfeksiyonuna yönelik hazırlanmış aşılarla hayvanların immunize edilmesi son derece önemlidir.

Kaynaklar

- Miranda C, Thompson G. Canine parvovirus: The worldwide occurrence of antigenic variants. *Journal of General Virology* 2016; 97: 2043-2057. doi: 10.1099/jgv.0.000540.
- Goddard A, Leisewitz AL. Canine parvovirus. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2010; 40: 1041-1053. doi: 10.1016/j.cvsm.2010.07.007.
- Dash S, Das MR, Senapati SK, Jena GR, Nath I, et al. Therapeutic alternations of haematological parameters in canine parvo virus. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2019; 7: 286-288.
- Sykes JE. Canine parvovirus infections and other viral enteritides. Sykes JE. eds. In: *Canine and Feline Infectious Diseases*. St Louis, MO: Elsevier, 2014; pp. 141-151.
- Odueko FD. Literature review on canine parvoviral enteritis variants in Nigeria. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research* 2020; 9: 26-32. doi: 10.15406/jdvar.2020.09.00274.
- Greene CE. Feline enteric viral infections. Greene CE. eds. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. St Louis, MO: Elsevier, 2012; pp. 80-91.
- Hoelzer K, Parrish CR. The emergence of parvoviruses of carnivores. *Veterinary Research* 2010; 41: 39. doi: 10.1051/vetres/2010011.
- Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus-a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology* 2012; 155: 1-12. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.09.007.
- Markovich JE, Stucker KM, Carr AH, Harbison CE, Scarlett JM, et al. Effects of canine parvovirus strain variations on diagnostic test results and clinical management of enteritis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2012; 241: 66-72. doi: 10.2460/javma.241.1.66.
- Iris K, Leontides LS, Mylonakis ME, Adamama-Moraitou K, Rallis T, et al. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Research In Veterinary Science* 2010; 89: 174-178. doi: 10.1016/j.rvsc.2010.02.013.
- Lenghaus C, Studdert MJ. Acute and chronic viral myocarditis. Acute diffuse nonsuppurative myocarditis and residual myocardial scarring following infection with canine parvovirus. *American Journal of Pathology* 1984; 115: 316-319.
- Reddy KB, Shobhamani B, Sreedevi B, Prameela DR, Reddy BS. Canine parvo viral infection in dogs and their treatment. *International Journal of Veterinary Science* 2015; 4: 142-144.
- Houston DM, Ribble CS, Head LL. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1996; 208: 542-546.
- Mason MJ, Gillert NA, Muggenburg BA. Clinical and pathological and epidemiological aspects of canine parvoviral enteritis in an unvaccinated closed beagle colony: 1978-1985. *The Journal of the American Animal Hospital Association* 1987; 23: 183-192.
- Castro TX, Miranda SC, Labarthe NV, Silva LE, Cubel Garcia RCN. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the state of Rio de Janeiro: 1995-2004. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2007; 59: 333-339.
- Gisilanbe MJ, Okuwa OA, Joseph ZN, Udo UJ. Risk factors associated with canine parvovirus enteritis in vom and environs. *Animal Research International* 2005; 2: 366-368.
- Godsall SA, Clegg SR, Stavisky JH, Radford AD, Pinchbeck G. Epidemiology of canine parvovirus and coronavirus in dogs presented with severe diarrhoea to pdsa petaid hospitals. *Veterinary Record* 2010; 167: 196-201. doi: 10.1136/vr.c3095.
- Aktaş MS, Ozkanlar Y, Kırbas A. Erzurum ve çevresinden kliniğe getirilen sahipli köpeklerin parvoviral enteritisini etkileyen risk faktörleri üzerinde bir araştırma. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2011; 6: 1-8.
- Ford J, McEndaffer L, Renshaw R, Molesan A, Kelly K. Parvovirus infection is associated with myocarditis and myocardial fibrosis in young dogs. *Veterinary Pathology* 2017; 54: 964-971. doi: 10.1177/0300985817725387.
- Mazzaferro EM: Update on canine parvoviral enteritis. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2020; 50: 1307-1325. doi: 0.1016/j.cvsm.2020.07.008.
- McCaw DL, Hoskins JD. Canine viral enteritis. Greene CE. eds. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. St Louis: Saunders, 2006; pp. 63-73.
- Veir JK. Canine parvoviral enteritis. Bonagura JD, Twedt DC. eds. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*. St Louis, MO: Elsevier, 2014; pp. 533-536.
- Carr-Smith S, Macintire DK, Swango LJ. Canine parvovirus: Part I. Pathogenesis and vaccination. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 1997; 19: 125-133.
- Greene C, Decaro N. Canine viral enteritis. Greene C. eds. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. St. Louis: Elsevier, 2012; pp. 67-79.
- Prittie J. Canine parvoviral enteritis. A review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2004; 14: 167-176. doi: 10.1111/j.1534-6935.2004.04020.x.
- Robinson WF, Huxtable CR, Pass DA, Howell JM. Clinical and electrocardiographic findings in suspected viral myocarditis of pups. *Australian Veterinary Journal* 1979; 55: 351-355. doi: 10.1111/j.1751-0813.1979.tb15853.x.
- Silva VBC, Sousa MG, Araújo CRA, Lima ABG, Carareto R. Cardiac biomarkers in dogs with visceral leishmaniasis. *Austral Journal of Veterinary Sciences* 2016; 48: 269-275.

28. Er C, Ok M. Levels of cardiac biomarkers and coagulation profiles in dogs with parvoviral enteritis. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015; 21: 383-388. doi: 10.9775/kvfd.2014.12575.
29. Bastan I, Kurtde A, Sel T, Ozen D, Yumusak N, et al. Serum cardiac troponin-I in dogs with CPV-2 infection. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013; 60: 251-255.
30. de Abreu CB, Muzzi RAL, de Oliveira LED, Schullien T, Coelho MR, et al. Systolic dysfunction by two-dimensional speckle tracking echocardiography in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Cardiology* 2021; 34: 93-104. doi: 10.1016/j.jvc.2021.01.006.
31. Ling M, Norris JM, Kelman M, Ward MP. Risk factors for death from canine parvoviral-related disease in Australia. *Veterinary Microbiology* 2012; 158: 280-290. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.02.034.
32. Dossin O, Rupassara SI, Weng HY, Williams DA, Garlick PJ, et al. Effect of parvoviral enteritis on plasma citrulline concentration in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2011; 25: 215-221. doi: 10.1111/j.1939-1676.2010.0671.x.
33. Jacobs RM, Weiser MG, Hall RL, Kowalski JJ. Clinicopathologic features of canine parvoviral enteritis. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1980; 16: 809-814.
34. Nappert G, Dunphy E, Ruben D, Mann FA. Determination of serum organic acids in puppies with naturally acquired parvoviral enteritis. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2002; 66: 15-18.
35. van den Broek AH. Serum protein electrophoresis in canine parvovirus enteritis. *British Veterinary Journal* 1990; 146: 255-259.
36. McClure V, van Schoor M, Goddard A, Thompson P, Kjelgaard-Hansen M. Serial C-reactive protein measurements as a predictor of outcome in puppies infected with parvovirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2013; 243: 361-366. doi: 10.2460/javma.243.3.361.
37. Kocaturk M, Martinez S, Eralp O, Tvarijonavičiute A, Ceron J, et al. Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Small Animal Practice* 2010; 51: 478-483. doi: 10.1111/j.1748-5827.2010.00965.x.
38. Yılmaz Z, Senturk S. Characterisation of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Small Animal Practice* 2007; 48: 643-650. doi: 10.1111/j.1748-5827.2007.00391.x.
39. Eregowda CG, De UK, Singh M, Prasad H, Akhilesh, et al. Assessment of certain biomarkers for predicting survival in response to treatment in dogs naturally infected with canine parvovirus. *Microbial Pathogenesis* 2020; 149: 104485. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104485.
40. Schoeman JP, Herrtage ME. Serum thyrotropin, thyroxine and free thyroxine concentrations as predictors of mortality in critically ill puppies with parvovirus infection: A model for human paediatric critical illness? *Microbes and Infection* 2008; 10: 203-207. doi: 10.1016/j.micinf.2007.11.002.
41. Gulersoy E, Ok M, Yildiz R, Koral E, Ider M, et al. Assessment of intestinal and cardiac-related biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2020; 23: 211-219. doi: 10.24425/pjvs.2020.133635.
42. Bastan I, Kurtde A, Ozen D. Prognostic usefulness of some parameters in dogs with canine parvovirus. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013; 60: 53-58.
43. Castro TX, Rita de Cássia N, Goncalves LP, Costa EM, Marcello GC, et al. Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. *The Canadian Veterinary Journal* 2013; 54: 885-888.
44. Ok M, Er C, Yildiz R. Evaluation of acute phase proteins and cytokines in dogs with parvoviral enteritis. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences* 2015; 31: 143-147. doi: 10.15312/EurasianJVetSci.2015310970.
45. Panda D, Patra RC, Nandi S, Swarup D. Oxidative stress indices in gastroenteritis in dogs with canine parvoviral infection. *Research in Veterinary Science* 2009; 86: 36-42. doi: 10.1016/j.rvsc.2008.05.008.
46. Otto CM, Rieser TM, Brooks MB, Russell MW. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2000; 217: 1500-1504. doi: 10.2460/javma.2000.217.1500.
47. Farrow CS. Radiographic appearance of canine parvovirus enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1982; 180: 43-47.
48. Stander N, Wagner WM, Goddard A, Kirberger RM. Ultrasonographic appearance of canine parvoviral enteritis in puppies. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 2010; 51:69-74. doi: 10.1111/j.1740-8261.2009.01625.x.
49. Tabor B. Canine parvovirus. *Veterinary Technician*. 2011; E1-E10.
50. Morner T, Olson P. Canine parvovirus infection demonstrated by immunofluorescence. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B* 1985; 32: 337-344. doi: 10.1111/j.1439-0450.1985.tb01970.x.
51. Parrish CR, Oliver RE, Julian AF, Smith BF, Kyle BH. Pathological and virological observations on canine parvoviral enteritis and myocarditis in the wellington region. *New Zealand Veterinary Journal* 1980; 28: 238-241. doi: 10.1080/00480169.1980.34765.
52. Er C. Parvoviral enteritisli köpeklerde kalp biyomarkırları ve pıhtılaşma profilleri üzerine araştırma, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 2013; s. 33. (thesis in Turkish).
53. Decaro N, Desario C, Beall MJ, Cavalli A, Campolo M, et al. Detection of canine parvovirus type 2c by a commercially available in-house rapid test. *The Veterinary Journal* 2010; 184: 373-375. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.04.006.
54. Schmitz S, Coenen C, König M, Thiel HJ, Neiger R. Comparison of three rapid commercial canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2009; 21: 344-345. doi: 10.1177/104063870902100306.
55. Bird L, Tappin S. Canine parvovirus: Where are we in the 21st century? *Companion Animal* 2013; 18: 142-146. doi: 10.12968/coan.2013.18.4.142.
56. Otto CM, Drobatz KJ, Soter C. Endotoxemia and tumor necrosis factor activity in dogs with naturally occurring parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1997; 11: 65-70. doi: 10.1111/j.1939-1676.1997.tb00075.x.
57. Goddard A, Leisewitz AL, Christopher MM, Duncan NM, Becker PJ. Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008; 22: 309-316. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0073.x.
58. Schoeman JP, Goddard A, Herrtage ME. Serum cortisol and thyroxine concentrations as predictors of death in critically ill puppies with parvoviral diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2007; 231:1534-1539. doi: 10.2460/javma.231.10.1534.
59. Chalifoux NV, Parker SE, Cosford KL. Prognostic indicators at presentation for canine parvoviral enteritis: 322 cases (2001-2018). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2021; 31: 402-413. doi: 10.1111/vec.13052.

60. Mischke R, Barth T, Wohlsein P, Rohn K, Nolte I. Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rh G-CSF) on leukocyte count and survival rate of dogs with parvoviral enteritis. *Research in Veterinary Science* 2001; 70: 221-225. doi: 10.1053/rvsc.2001.0464.
61. Dimmitt R. Clinical experience with cross-protective anti-endotoxin antiserum in dogs with parvoviral enteritis. *Canine Practice* 1991; 16: 23-26.
62. Otto CM, Jackson CB, Rogell EJ, Prior RB, Ammons WS. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2001; 15: 355-360. doi: 10.1111/j.1939-1676.2001.tb02329.x.
63. Savigny MR, Macintire DK. Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2010; 20: 132-142. doi: 10.1111/j.1476-4431.2009.00404.x.
64. de Mari K, Maynard L, Eun HM, Lebreux B. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled field trial. *Veterinary Record* 2003; 152: 105-108. doi: 10.1136/vr.152.4.105.
65. Lobetti RG, Joubert KE, Picard J, Carstens J, Pretorius E. Bacterial colonization of intravenous catheters in young dogs suspected to have parvoviral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2002; 220: 1321-1324. doi: 10.2460/javma.2002.220.1321.
66. Anastasio JD, Fletcher DJ, Rozanski EA. Crystalloid fluid therapy. Bonagura JD, Twedt D. eds. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy*. St Louis, MO: Elsevier, 2014; pp. 2-7.
67. Davis H, Jensen T, Johnson A, Knowles P, Meyer R, et al. 2013 AAHA/AAFP fluid therapy guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2013; 49: 149-159. doi: 10.5326/JAAHA-MS-5868.
68. Rudloff E, Kirby R. Colloid fluid therapy. Bonagura JD, Twedt D. eds. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*. St Louis, MO: Elsevier, 2014; pp. 8-14.
69. Mylonakis ME, Kalli I, Rallis TS. Canine parvoviral enteritis: An update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Veterinary Medicine: Research and Reports* 2016; 7: 91-100. doi: 10.2147/VMRR.S80971.
70. DiBartola SP, Autran de Morais H. Disorders of potassium: Hypokalemia and hyperkalemia. DiBartola SP. eds. In: *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders In Small Animal Practice*. St Louis, MO: Elsevier, 2006; pp. 91-121.
71. Dongre J, Mehta H, Maheshwari P. Comparative evaluation of two treatment regimens against canine parvovirus infection. *Haryana Veterinarian* 2015; 54: 83-84.
72. Bhat AA, Wadhwa DR, Khan MA. Therapeutic management of canine parvo viral (CPV) gastroenteritis. *Veterinary Practitioner* 2013; 14: 96-97.
73. Gaykwad C, Garkhal J, Chethan GE, Nandi S, De UK. Amelioration of oxidative stress using n-acetylcysteine in canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2018; 41: 68-75. doi: 10.1111/jvp.12434.
74. Kataria D, Agnihotri D, Jain VK, Charaya G, Singh Y. Molecular occurrence and therapeutic management of canine parvovirus infection in dogs. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2020; 9: 1770-1779.
75. Acciaccia RA, Sullivan LA, Webb TL, Johnson V, Dow SW. Clinical evaluation of hyperimmune plasma for treatment of dogs with naturally occurring parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2020; 30: 525-533. doi: 10.1111/vec.12987.
76. Pereira GQ, Gomes LA, Santos IS, Alfieri AF, Weese JS, et al. Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2018; 32: 707-711. doi: 10.1111/jvim.15072.
77. Kumar R, Kumar B, Kumar S, Kumari A. Comparative evaluation of therapeutic modules for treatment of parvoviral gastroenteritis in dogs. *Journal of Animal Research* 2020; 10: 673- 676.
78. Naveenkumar V, Bharathi MV, Nagarajan B. Heterogenous immunoglobuliny (IgY) therapy: A new modality in canine parvovirus enteritis treatment. *Indian Veterinary Journal* 2019; 96: 76 - 77.
79. Kotb AM, Abdel Aziz WR. Efficacy of canine parvovirus hyperimmune serum prepared in horses for treatment of canine parvo and feline panleucopenia infections. *Benha Veterinary Medical Journal* 2015; 28: 34-39.
80. Rishikesavan R, Palanivel KM, Saravanajayam M. Successful treatment of canine parvoviral infection with imunoglobulins in a pup. *The Pharma Innovation Journal* 2021; 10: 27-28.
81. Arslan HH, Aksu DS, Terzi G, Nisbet C. Therapeutic effects of probiotic bacteria in parvoviral enteritis in dogs. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2012; 163: 55-59.
82. Abdel-Rhman AA, El Balkemy FA, Abouzeid NZ, Edries SM. The efficacy of pind-orf with canine parvovirus vaccines in the protection of experimentally challenged puppies against the newly identified CPV-2a virus. *Zagazig Veterinary Journal* 2020; 48: 57-66. doi: 10.21608/zvjz.2019.15808.1072.
83. Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Lanieu ME, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: Sequential virus distribution and passive immunization studies. *Veterinary Pathology* 1985; 22: 617-624. doi: 10.1177/030098588502200617.
84. Armenise A, Trerotoli P, Cirone F, De Nitto A, De Sario C, et al. Use of recombinant canine granulocyte-colony stimulating factor to increase leukocyte count in dogs naturally infected by canine parvovirus. *Veterinary Microbiology* 2019; 231: 177-182. doi: 10.1016/j.vetmic.2019.03.015.
85. Martin V, Najbar W, Gueguen S, Grousson D, Eun HM, et al. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled challenge trial. *Veterinary Microbiology* 2002; 89: 115-127. doi: 10.1016/s0378-1135(02)00173-6.
86. Duffy A, Dow S, Ogilvie G, Rao S, Hackett T. Hematologic improvement in dogs with parvovirus infection treated with recombinant canine granulocyte-colony stimulating factor. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2010; 33: 352-356. doi: 10.1111/j.1365-2885.2009.01153.x.
87. Schaudien D, Polizopoulou Z, Koutinas A, Schwab S, Porombka D, et al. Leukoencephalopathy associated with parvovirus infection in cretan hound puppies. *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48: 3169-3175. doi: 10.1128/JCM.01582-09.
88. Albaz AZ, Sayed-Ahmed M, Younis E, Khodier M. Investigation of the antiviral effect of acyclovir on canine parvovirus infection. *Pharmacy & Pharmacology International Journal* 2015; 2: 36-39. doi: 10.15406/ppij.2015.02.00014.
89. Zhou H, Su X, Lin L, Zhang J, Qi Q, et al. Inhibitory effects of antiviral drug candidates on canine parvovirus in F81 cells. *Viruses* 2019; 11: 742. Doi: 10.3390/v11080742.
90. Yalcin E, Keser GO. Comparative efficacy of metoclopramide, ondansetron and maropitant in preventing parvoviral enteritis-induced emesis in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2017; 40: 599-603. doi: 10.1111/jvp.12396.

91. Sullivan LA, Lenberg JP, Boscan P, Hackett TB, Twedt DC. Assessing the efficacy of maropitant versus ondansetron in the treatment of dogs with parvoviral enteritis. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2018; 54: 338-343. doi: 10.5326/JAAHA-MS-6650.
92. De La Puente VA, Siedek EM, Benchaoui HA, Tilt N, Rowan TG et al. The anti-emetic efficacy of maropitant (cerenia™) in the treatment of ongoing emesis caused by a wide range of underlying clinical aetiologies in canine patients in europe. *Journal of Small Animal Practice* 2007; 48: 93-98. doi: 10.1111/j.1748-5827.2006.00321.x.
93. Ramsey DS, Kincaid K, Watkins JA, Boucher JF, Conder GA, et al. Safety and efficacy of injectable and oral maropitant, a selective neurokinin 1 receptor antagonist, in a randomized clinical trial for treatment of vomiting in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2008; 31: 538-543. doi: 10.1111/j.1365-2885.2008.00992.x.
94. Mohr AJ, Leisewitz AL, Jacobson LS, Steiner JM, Ruaux CG, et al. Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003; 17: 791-798. doi: 10.1111/j.1939-1676.2003.tb02516.x.
95. Tupler T, Levy JK, Sabshin SJ, Tucker SJ, Greiner EC, et al. Enteropathogens identified in dogs entering a florida animal shelter with normal feces or diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2012; 241: 338-343. doi: 10.2460/javma.241.3.338.
96. Cavalli A, Marinaro M, Desario C, Corrente M, Camero M, et al. In vitro virucidal activity of sodium hypochlorite against canine parvovirus type 2. *Epidemiology & Infection* 2018; 146: 2010-2013. doi: 10.1017/S0950268818002431.
97. Altman KD, Kelman M, Ward MP. Are vaccine strain, type or administration protocol risk factors for canine parvovirus vaccine failure? *Veterinary Microbiology* 2017; 210: 8-16. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.08.019.
98. De Cramer KGM, Stylianides E, van Vuuren M. Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology* 2011; 149: 126-132. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.11.004.



Veteriner Fitoterapide Yara Bakımında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler

Ayşe GÖLGEİ BEDİR¹, Ferda TURGUT¹

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Erzurum/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 08.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 01.11.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Bedir AG, Turgut F. Veteriner Fitoterapide Yara Bakımında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):73-79.

Özet: Fitoterapi dünya çapında yara iyileşmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Fitoterapide sıklıkla alo vera, çay ağacı yağı, sarı kantaron, kudret narı, biberiye, aynısefa, yeşil çay, gotu kola bitkileri kullanılmaktadır. Pek çok bilimsel çalışma bu bitkilerden elde edilen ekstraktların antibakteriyel, kollajen sentezini artırıcı, yara iyileşmesinin proliferasyon fazını ve fibroblastları uyarıcı etkisi olduğunu ve bu sayede yara iyileştirmesini hızlandırdığını rapor etmiştir. Fitoterapi alanında yapılan gelişmelerle birlikte çoğu bitkiler preparatlaştırılmış ve ticari olarak kullanıma sunulmuştur. Daha çok oral veya topikal olarak uygulanan bu preparatların kullanımına göre bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu derleme veteriner fitoterapide yaygın olarak kullanılan fitoterapik bitkilerin özellikleri hakkında bilgi vermek amacıyla yazılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aloe vera, Çay ağacı yağı, Fitoterapi, Kudret narı, Sarı kantaron, Yara iyileşmesi

Plants Widely Used in Wound Care in Veterinary Phytotherapy

Abstract: Phytotherapie is an approach widespread employed in wound healing. Aloe vera, Tea tree oil, St. John's wort, Bitter gourd, Rosemary, Calendula, Green tea, Gotu Kola plants are often used in phytotherapy. Previous studies have reported that the extracts obtained from plants have antibacterial effects, increasing collagen synthesis, stimulating the proliferation phase of wound healing and fibroblasts, thereby accelerating wound healing. With the developments in the field of phytotherapy, most plants have been prepared and commercially available. There are some advantages and disadvantages compared to the employed preparations, which are mostly applied oral or topical. This review was written in order to provide information about the properties of widely used phytotherapeutic plants in veterinary medicine field.

Keywords: Wound healing, Phytotherapy, Aloe vera, Tea tree oil, Bitter gourd, St. John's Wort

1. Giriş

Fitoterapi terimi, ilk defa 1870-1955 yılları arasında yaşamış Fransız hekim Henri Leclerc tarafından kullanılmıştır. Yunanca; “phyto” bitki ve “therapy” tedavi kelimelerinden oluşan, bitkilerin zengin kimyasal içeriğinden tedavi amacıyla yararlanılması anlamına gelmektedir. Bitkilerin köklerinden, yapraklarından ya da çiçeklerinden elde edilen ekstraktların, yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi pek çok bilimsel çalışmada gösterilmiştir (1). Yarada tedavi edici aktivite gösteren bitkisel ekstraktlar alkaloidler, flavanoidler, glikozidler ve terpenler şeklinde gruplandırılabilir. Bu ekstraktların antibakteriyel etkilerinin yanı sıra kollajen sentezini artırıcı, yara iyileşmesinin proliferasyon fazını ve fibroblastları uyarıcı, antimikrobiyal ve antioksidan etkiler gösterdikleri bildirilmiştir (2).

Tıbbi bitkiler genellikle yara iyileşme sürecinin en az bir fazını etkilemektedirler ve yara iyileşmesinde uygun bir ortam için gerekli olan nemli bir alan sağlamaktadırlar. Bunun yanı sıra, bitkiler yara iyileşmesinin modülasyonu, kollajen sentezinin ve fibroblast yoğunluğunun artırılmasını sağlayarak iyileşme sürecine katkı sağlarlar (3). Tıbbi

bitkiler serbest oksijen radikallerini nötrleştirerek yara iyileşmesine katkıda bulunurlar (2, 4).

2. Yara iyileşmesi

Deri ve mukozayı oluşturan yapıların farklı nedenlerle bütünlüğünün bozulması sonucu var olan fizyolojik özelliklerin geçici süreli veya tamamen kaybolması ile oluşan lezyon “yara” olarak tanımlanmaktadır. Başka bir deyişle yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır (5). Yara açık veya kapalı olarak sınıflandırılır. Cerrahi ensizyon, batıcı-delici alet yaralanmaları, yanıklar ve ısırık sonucu oluşan yaralar açık yara sınıfında yer alırken, hematom, kontüzyon, sıyrıma ve burkulma sonucunda oluşan yaralar kapalı yara olarak tanımlanmaktadır. Açık yaralarda deri bütünlüğü bozulmuştur ve yara atmosfer ile temas halindedir. Bu nedenle açık yaralar kısa sürede kapatılarak bakımı yapılmazsa enfeksiyon gelişebilir (6).

Yara iyileşmesi inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç aşamada gerçekleşir. Yaralanmadan sonra hemostazın sağlanmasının ardından 0 ile 6 gün süren

inflamasyon süreci başlar. Bu aşamada fibroblastlar, doku mast hücreleri, lökositler ve makrofajlar faaliyet gösterir. Yaralanan dokuda kısa bir vazokonstriksiyon oluştuktan sonra vazodilatasyon başlar ve kapiller geçirgenliğin artması, eksudat oluşması, fagositozun başlaması ve büyüme faktörlerinin salınımı gerçekleşir. Yaklaşık 3 ile 24 gün süren proliferasyon aşamasında; yeni kan damarlarının oluşumu (neovaskülarizasyon) ve ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezi için dokunun beslenmesine ve oksijenlenmesine gereksinim vardır. Epitelizasyonun gerçekleşmesinde iki temel mekanizma migrasyon ve mitozdur. Maturasyon aşaması yaralanmadan üç hafta sonra başlayan son aşamadır. Bu aşama proliferasyon fazında oluşan kollajen liflerinin şekillenme sürecidir. Sonuçta skar dokusu oluşur. Bu aşama bir yıla kadar uzayabilir (7). Fitoterapik bitkiler bu fazların farklı dönemlerini uyararak yara iyileşmesini hızlandırdığı yapılan pek çok çalışma ile ortaya konmuştur (1, 8).

Veteriner hekimlikte, bitkiler geçmişten günümüze çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Tavuklarda *Urtica dioica* bitkisi yumurtlamayı teşvik etmek, sığırlarda *Scrophularia canina* yara antisepsisini sağlamak, *Sempervivum tectorum* buzağılarda sindirimi hızlandırmak amacıyla kullanılmıştır. Endometritli sığırlarda yapılan bir çalışmada, bitkilerin antibiyotiklerden daha etkili olduğu bildirilmiştir (9). Piyoderma, atopik dermatitis, otitis eksterna, yara ve dermatofitozisli köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada, *Calendula officinalis* L. (Marigold), *Hypericum perforatum* L. agg. (St. John's Wort), *Matricaria chamomilla* L. (syn. *Matricaria recutita* L., Papatya) ve *Salvia officinalis* L. bitkilerinin geniş spektrumlu antibiyotik ve antifungal etkilerinden yararlandığı ve olumlu sonuçlar alındığı rapor edilmiştir (10). Yara iyileşmesinde veteriner sahada en sık kullanılan bitkiler; aloe vera, çay ağacı yağı, sarı kantaron, kudret narı, biberiye, aynısefa, yeşil çay, gotu kola' dır.

2.1. Tıbbi sarısabır (*Aloe vera*)

Aloe veranın botanik adı *Aloe barbadensis* miller olup, *Asphodelaceae* (*Liliaceae*) ailesine ait, 360'ın üzerinde bilinen türü olan, ağaçsı, uzun yapraklı, etli, bezelye yeşili renkte bir bitkidir. Genel olarak Afrika, Avrupa ve Amerika'nın kuru bölgelerinde yetişmektedir. Ülkemizde "tıbbi sarısabır veya odağacı" olarak bilinir ve özellikle yurdumuzun Güneybatı Anadolu Bölgesi'nde yetişmektedir. Bitki, sarı boru şeklinde çiçek ve meyve kısmı ile çok sayıda tohum içermektedir. Her bir lif 3 tabaka içerip iç kısmında bulunan şeffaf jel tabaka %99 oranında su, kalanında ise glukomannan, aminoasit, yağ, sterol ve vitaminler içerir. Orta tabaka olan lateks kısmı, acı sarı özsu, antrakinin ve glikozidleri içermektedir. Dış kalın tabaka ise 15-20 hücre içeren ve kabuk olarak adlandırılan kısım olup, koruyucu fonksiyondadır. Ayrıca karbonhidrat ile protein sentezi görevi bu kısımda yapılmaktadır. Kabuk kısmının içinde ise

su ve nişasta gibi maddeleri taşıma görevi olan damarsal lifler bulunmaktadır (1, 11).

Oral veya topikal uygulama ile yara iyileşmesinde kullanılan aloe vera, granülasyon dokusunda kollajen miktarında, anjiyogenezde, hiyalüronik asit ve dermatan sülfat sentezinde artışa neden olmaktadır. Manno-6-fosfat gibi aloe türevli polisakkaritlerin özellikle epitelizasyonda aktif büyüme maddeleri olduğu öne sürülmüştür (12, 13). Yapılan bir çalışmada, mannoz-6-fosfatın fibroblast reseptörlerine bağlanmasının, kollajen birikimini ve dokunun yeniden düzenlenmesini teşvik etmeye yardımcı olan fibroblastik proliferasyonu indüklediğini açıklamıştır. Benzer şekilde başka bir çalışma da ise, Aloe veranın doğal pigmentinden sorumlu organik bir bileşik olan antrakininlerin antibakteriyel özelliklerinin enfeksiyonu en aza indirmede faydalı olduğunu öne sürmüştür (1). Aloe vera siklooksijenaz enzimini inhibe edip, araşidonik asitten prostaglandin- E2 sentezini azaltır. Jel ekstraktından C-glukozil kromon olarak adlandırılan yeni bir antiinflamatuvar bileşik sentezlenmiştir (1). Aloe vera özü, antiinflamatuvar özelliği nedeniyle yara iyileşme sürecini destekler. Çünkü aloe vera özü tannik asit ve yara iyileşme sürecine yardımcı olan bir tür polisakkarit içerir (14). Aloe vera yaprağındaki jel, indoller ve alkaloidler de dahil olmak üzere bazı bileşiklere atfedilebilecek antioksidan özelliklerle yara iyileşmesi üzerinde faydalı etkilere sahiptir (15). Yara iyileşmesindeki etkilerine ek olarak aloe veranın, antiprotozoal, analjezik, laksatif ve antiseptik etkisi de bulunmaktadır (1). Aloe veranın diyabetle ilgili semptomları düzeltebilecek non-flavonoid polifenol bileşikleri fitosteroller ve indoller içerdiği bir çalışmada gösterilmiştir (15).

Aloe vera bitkisinin diyabet modellerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada nondiyabetik ratlarda, kan glukoz değerinde etkisi olmazken tip I ve tip II diyabet oluşturulan hastalarda hipoglisemik etkisi olduğu rapor edilmiştir (16). Ratlarda aloe veranın yara iyileşme sürecine etkisinin çalışıldığı bir başka çalışmada ise; 30 gr aloe vera'dan elde edilen jeller lokal olarak uygulanmasının yara iyileşmesini uygulama sıklığına paralel olarak önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (17).

2.2. Çay ağacı yağı (*Melaleuca alternifolia*)

Çay ağacı yağı, esas olarak Avustralya'ya özgü 5-7 metreye kadar uzayabilen, çalı şeklinde olan *Melaleuca alternifolia* bitkisinden türetilen uçucu bir yağdır. Güçlü antiseptik etkisi ve geniş kullanım alanı nedeniyle, dünyanın dört bir yanına ihraç edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkilerden çiçekli dönemde toplanan taze yaprakları ve dal uçları uçucu yağ elde etmek için kullanılmaktadır (18).

Çay ağacı yağı geleneksel tıpta yüzyıllardır çeşitli biçimlerde özellikle antiseptik amaçla kullanılmış bir yağdır. Ayak tırnağı mantarı ve *Tinea pedis* gibi problemlerde

tedavi amacıyla kullanımı da uzun bir geçmişe sahiptir. Yapılan araştırmalar, bu yağın akne, kepek, baş biti ve yinelenen *Herpes labialis* tedavilerinde de etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca çay ağacı yağı mukoz membran enfeksiyonlarında (*Trichomonas vaginalis* vb) ve orofaringeal candidiasis tedavilerinde başarılı kullanımları ile ilgili araştırmalar da mevcuttur (19).

Çay ağacı yağı belirgin antimikrobiyal aktivitesini içeriğindeki terpinen-4-ol, 2-endo-hidroksi-1,8-sineol ve p-ment-3 - ene-1,2-diol' den almaktadır (20). Aynı zamanda antibakteriyel, antifungal ve antiviral, antiinflamatuvar, analjezik, böcek öldürücü ve antipruritik özelliklere sahiptir (21). Bunlara ilaveten gözde demodex uyuzuna karşı insanda kullanıldığı bir çalışmada topikal olarak uygulanmış ve %50 çay ağacı yağının uyuz etkenlerinin uzaklaşmasını sağladığı, akar sayısını azalttığı ve buna bağlı blefarit semptomlarını iyileştirdiği bildirilmiştir. Çay ağacı yağının bunu akarısidal, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkileri ile başardığı bildirilmektedir. Bildirilen yan etkiler ise doza bağlı oküler tahriş, blefarospazm, yırtılma ve kontakt dermatit de dahil olmak üzere ciltte ve gözde oluşan alerjik reaksiyondur (21). *Morbus ansen* (MH) hastalığında çay ağacı yağı hidrojelinin %5'inin Cüzamın Kronik Plantar Ülserinin (CPUL) iyileşmesine etkisi araştırılmış ve iyileşme sağladığı gözlenmiştir (22). Köpeklerde çay ağacı kreminin (%10) kronik dermatitis ve pruritis tedavisinde güvenilir bir şekilde kullanılabilceği tespit edilmiştir (23). Köpeklerde ve kedilerde seboreik dermatit gibi farklı cilt hastalıklarına neden olan Lipofilik maya *Malassezia pachydermatise* karşı yapılan in vitro çalışmada çay ağacı yağının test edilen tün suşlara karşı etkili olduğu belirtilmiştir (24).

Köpeklerde ve kedilerde dermatolojik durumlar da dahil olmak üzere çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için bitkiden alınan %100 çay ağacı içeren ekstraktların kullanımının ciddi nörolojik etkilere (parezi, ataksi, titreme ve koma) veya ölümlere neden olabileceği rapor edilmiştir (25). *Melaleuca alternifolia* yağı içeren spreyin (%100), dış parazit tedavisi için üç kediye uygulaması sonrası hayvanlarda toksikasyon gözlemlendiği bildirilmiştir (26).

2.3. Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.)

Hypericum perforatum L. (St. John's Wort, Hypericaceae), *Hypericaceae* (Clusiaceae, Guttiferae) familyasına aittir ve dünya çapında 400 türü bulunan *Hypericum* cinsinin bir üyesidir. Avrupa, Batı Asya, Kuzey Afrika, Madeira ve Azor Adaları'na özgüdür ve başta Kuzey Amerika ve Avustralya olmak üzere dünyanın birçok yerinde yetişebilmektedir (27). Bu bitki depresyon, anksiyete, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan ajan ve yara iyileştirici özellikler gibi pek çok terapötik etkilere sahip önemli bir tıbbi bitkidir (28, 29).

Hypericum perforatum L. (Hypericaceae) geleneksel olarak yağlı bir ekstrakt (*Hypericum perforatum* extract) olarak hazırlanır. In vivo ve in vitro gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda inflamasyon periyodunu kısaltması, fibroblast göçünü ve kollajen birikimini arttırması, yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri olarak kabul edilmiştir. Naftodiantronların, floroglukinollerin, flavonoidlerin, biyoflavonoidlerin ve fenilpropanoidlerin yara iyileşmesinden ve yangı önleyici etkilerden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (29). Antibakteriyel etkisini gram-pozitif bakterilerin büyümesini inhibe ederek yaptığı bildirilmiştir (28). Skar dokusu oluşumuna neden olan fibroblast hücreleri, yara iyileşmesinin proliferatif fazında önemli bir rol oynar. Ayrıca, kollajen ve diğer adezyon moleküllerinin sentezlerinde etkilidirler. *H. perforatum*'un içeriğinde flavonoidlerin ve ksantonların varlığı, poligonal fibroblastların yüzdesinde ve kollajen sentezinin uyarılmasında artışa neden olmasının yanı sıra epitel hücre proliferasyonunda ve göçünde olumlu etkilere neden olmaktadır. Flavonoidlerin, sadece hücre nekrozunun başlangıcını önleyerek veya yavaşlatarak değil, aynı zamanda vaskülariteyi iyileştirerek lipid peroksidasyonunu azalttığı bilinmektedir. Lipid peroksidasyonunu inhibe eden herhangi bir ilacın, yara dokusunda dolaşımı ve kollajen liflerinin kuvvetini arttırdığı ayrıca DNA sentezini teşvik ederek hücre hasarını önlediği tespit edilmiştir (28).

Çiçek ekstraktının fitokimyasal analizinde, bu bitkinin içeriğinde tanen, hiperin, hiperisin, hiperforin, amentoflavon, flavonoidler ve ksantonların olduğu gösterilmiştir. Ayrıca amentoflavon ve hiperisinin antiinflamatuvar etkileri olduğu bildirilmiştir (28). Diyabet oluşturulan ratlarda yara iyileşmesinin çalışıldığı bir literatürde zeytinyağı ile *H. perforatum*'un oral kullanımı karşılaştırılmış ve *H. perforatum*'un, daha hızlı inflamatuvar yanıt ve daha iyi iyileşme sağladığı belirtilmiştir (29). Ratlarda oluşturulan yanık yarasında, *Hypericum perforatum*'un kullanımının yara iyileşmesi üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (30). Tavşanlarda topikal olarak uygulanan *Hypericum perforatum* yağının eksizyonel palatal yara iyileşmesinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise zeytinyağı ile karşılaştırılmış ve iyileşmede iki yağ arasında fark olmadığı gözlemlenmiştir (31). Evcil hayvanlarda miyazisli yaraların iyileşmesi için geliştirilen ve içeriğinde *H. perforatum* bulunan bir yara örtüsünün iyileşmeye katkı sunduğu tespit edilmiştir (32).

2.4. Kudret narı (*Momordica charantia*)

Momordica charantia (MC), *Cucurbitaceae* familyasına ait halk arasında kudret narı olarak bilinen tropikal yayılım gösteren bir bitkidir. Bitki, dünyanın çeşitli yerlerinde coğrafi dağılıma sahiptir ve zümrüt yeşili renkte, acı tadı olan meyvesi bulunmaktadır. Bitki Afrika, Asya, Karayipler, Hindistan, Çin Malezya ve Güney Amerika'da tropikal bölgelerde yetişmektedir. Türkiye'de Ege Bölgesi'nde,

genellikle Yalova ve Bursa civarında yetiştirilmektedir. Yapısında glikozitler, saponinler, alkaloidler ve sabit yağlar, triterpenler, proteinler ve steroidler gibi biyolojik olarak etkin kimyasallara sahiptir. Olgunlaşmamış meyveler vitamin A ve C, karoten, demir, fosfor ve potasyum bakımından zengindir (33).

Bir sebze olarak antidiyabetik, antibakteriyel, antifungal, antiviral, hipolipidemik, antikanser, antioksidan, analjezik, antiinflamatuvar, antihipertansif, antiprotrombin, antiülser, antidepresan etkilerinin yanı sıra karaciğeri koruyucu ve obeziteyi önleyici etkileri belirlenmiş ve mide ağrısı, soğuk algınlığı, ateş, gut, ishal, helmint, romatizma ve yaralar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel bir bitki olarak kullanılır (34). Yapılan bir çalışmada kudret narının meyve özünden elde edilen ekstraktın büyüme faktörlerinde ve insandaki dermal fibroblast hücrelerinde artış sağladığı belirtilmiştir (35). *M. Charantia*'nın tolbutamidle karşılaştırılabilir hipoglisemik aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Kristal formda *M. charantia* meyvelerinden ekstrakte edilen P-insülin olarak adlandırılan saf protein de test edilir (36). Kudret narı aynı zamanda yüksek miktarda C vitamini de içermektedir. Bitkinin meyve ve yaprakları mineral ve vitamin yönünden oldukça zengin olup, özellikle demir, kalsiyum, magnezyum, fosfor ve B vitamini kaynağıdır. Ayrıca β -karoten, potasyum, magnezyum, demir, fosfor, A vitamini ve çinko içerdiği de bilinmektedir (34).

Kudret narı bitkisinin hem normal hem de diyabetik ratlarda kan şekeri ve lipitleri azalttığı, beta hücrelerini koruduğu, insülin duyarlılığını arttırdığı ve oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (37). Tavşanlarda yara iyileşmesi üzerine yapılan başka bir çalışmada ise; kudret narı, bepanten ve nitrofurazon pomadlar karşılaştırılmış ve yara iyileşmesinde en iyi sonuç veren pomadın kudret narı olduğu gözlemlenmiştir (38).

2.5. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.)

Laminacae (Labiatae) familyasından biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) önemli bir tıbbi ve aromatik bitki türüdür. Ülkemizde farklı isimlerle de (kuşdili, hasalban ve akpüren) adlandırılan biberiye 50-100 cm yükseklikte, çalı görünüşte, kışın yaprağını dökmeyen, çiçekleri soluk mavi renkli çok yıllık bir bitkidir. Türkiye'nin batı ve güney kıyılarında doğal olarak yetişmekle birlikte yaygın olarak Çanakkale, Mersin, Adana, Tarsus, Hatay illerinde özellikle Mersin ve Adana yöresinde maki florası içerisinde, orman içi boşluklarda, tarla ve üzüm bağları kenarlarında, koruma altındaki ağaçlandırma sahaları içerisinde geniş yayılım göstermektedir (39).

Biberiye bitkisinin sekonder metabolitlerinin etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda biberiyenin antikanser, insektisit, antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan etkileri olduğu belirtilmiştir. Bitkinin karnosik

asit, karnosol, rosmarinik asit, diterpen, triterpenoid, fenolik asit ve flavonoidleri içeren bileşiklerinden dolayı antioksidan özellikte olduğu rapor edilmiştir (40). Ayrıca içeriğindeki esansiyel yağ ve ham ekstraktın biyolojik etkilerinden, birçok biyomolekülün sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu etkilere neden olan spesifik bileşikler nadiren tanımlanmıştır. *R. officinalis* yapraklarında yüksek konsantrasyonda flavonoidlere ek olarak polifenoller ve terpenler bildirilmiştir. Biberiyenin antiinflamatuvar aktivitesi, sinerjik olarak etki eden karnosol ve karnosik, rosmarinik, ursolik, oleanolik ve mikromerik asitlerin varlığına bağlanmıştır (41). Enfekte yara iyileşmesi araştırılan sıçan modelinde biberiye merheminin topikal uygulamasının inflamatuvar hücreleri önemli ölçüde azalttığı, fibroblast göçünü ve yara dudaklarında kontraksiyonu arttırdığı bildirilmiştir (42). Bunun yanı sıra diyabetik yara iyileşmesinin araştırıldığı bir çalışmada ise iyileşme sürecinde inflamasyonda azalma ve yara kontraksiyonunda artış, reepitelizasyon, granülasyon dokusunun rejenerasyonu, anjiyogenezin yanı sıra kollajen birikimi gözlenmiştir (43).

Rosmarinus officinalis yapraklarının etanolik ekstraktının, tavşanlarda glukoz homeostazı ve antioksidan savunma mekanizması üzerindeki olası etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; *Rosmarinus officinalis* yapraklarının ekstraktının hipoglisemik etkisinin olduğu ortaya konmuştur (44). Farelerde pençe ödemi ve kolitlerde, *Rosmarinus officinalis*'in oral olarak uygulaması sonucu biberiye esansiyel yağının, anti-inflamatuvar etkisinin, zamana ve doza bağlı olarak değişiklik gösterdiği saptanmıştır (45). Biberiye ekstraktının, povidon-iyot ve izotonik salin solüsyonuna kıyasla yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise; biberiye ekstraktının yara iyileşmesinde diğerlerine kıyasla daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir (46).

2.6. Aymışefa (*Calendula officinalis*)

Calendula officinalis (C. oficinalis), *Asteraceae* familyasına ait Avrupa, Çin, Amerika Birleşik Devletleri ve Hindistan gibi ülkelerde tıbbi olarak kullanılan yaygın bir bahçe bitkisidir. Bitkinin büyük sarı veya turuncu çiçekleri ve yaprakları, cilt ve saç ürünleri de dahil olmak üzere sayısız kullanım için bir infüzyon, tentür, sıvı ekstrakt şeklinde (krem / merhem) olarak kullanılabilir. *C. officinalis* tıbbi kullanımına katkıda bulunan çeşitli farmakolojik özelliklere sahip triterpenoidler, flavonoidler, kumarinler, kinonlar, uçucu yağ, karotenoidler ve amino asitler gibi ikincil metabolitlere sahiptir (47). Özellikle, triterpenoidlerin ve flavonoidlerdir önemli bir anti-inflamatuvar ve antiödematöz bileşik olduğu bildirilmektedir. Bu bileşiklerin ayrıca lipoksijenaz enzimlerini ve mast hücrelerin inhibasyonunu baskıladığı belirtilmiştir. Ayrıca, flavonoidler güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (48). *C. officinalis* ekstraktının birçok türde flavonoid, 14-18

triterpenoid ve polifenol içerdiği bulunmuştur. Yara iyileşmesi için gerekli olan; antiinflamatuvar, antibakteriyel, antioksidan, analjezik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (49).

Hayvanlarda yara iyileşmesinin araştırıldığı bir çalışmada aynısefa özü ile tedavi edilen gruplarda, inflamasyon aşamasında daha hızlı iyileşme ve granülasyon dokusu oluşumunda artış sağladığı bildirilmiştir. Bu bulgu, in vitro çalışmalarda gözlemlendiği gibi, aynısefanın anti-inflamatuvar etkisi, fibroblast aktivasyonu artırması ve migrasyon sağlamasıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (50). Ülseratif kolit oluşturulan köpeklere *Calendula officinalis* ekstraktı lavman yöntemiyle uygulanmış ve iyileşme sağladığı gözlenmiştir (51). Ratlarda bitkinin esansiyel yağının Avrupa ilaç ajansına göre LD50 değeri ölçülerek toksisite çalışması yapılması sonucunda önemli bir toksisite oluşturmadığı, güvenle kullanılacağı ve bitkisel tıbbi ürün kapsamında olduğu bildirilmiştir (52).

2.7. Yeşil çay (*Camellia sinensis*)

Camellia sinensis'in bir ürünü olan yeşil çay, 200'den fazla bileşenden oluşur. En iyi bilinenleri kateşinler, flavonoidler, polifenolik bileşiklerdir, ancak aynı zamanda polisakarit konjugatları (TPC'LER), amino asitler, kafein ve vitaminler içerir (8). Flavanol polifenolik bileşikleri yaygın olarak bulunur ve yeşil çay yapraklarının kuru ağırlığının yaklaşık %30'unu oluşturur. TPC'LER immünogojik ışınlama korumasına, kan pıhtılaşmasına katkıda bulunur, ayrıca antikanser etkisine, antioksidan etkilere, anti-HIV korumasına, patojenik bakteriyel yapışmayı inhibe etme yeteneğine ve hipoglisemik aktivitelere sahiptir (53). Ratlarda yara iyileşmesinin değerlendirildiği bir çalışmada hayvanlara yeşil çayı oral kullanmanın iyileşmeyi hızlandırdığı belirtilmiştir (8). Ayrıca, köpeklerde *Staphylococcus* ile enfekte yaralarda kullanılan yeşil çayın iyileşme sağladığı gözlenmiştir (54). Köpeklerde yapılan bir başka çalışmada ise periodental hastalıklarda etkili olduğu kanıtlanmıştır (55).

2.8. Gotu kola (*Centella asiatica*)

Centella asiatica Umbelliferae/Apiaceae familyasına ait bir bitkidir. Güneydoğu Asya'da geleneksel olarak cilt hastalıkları, romatizma, yangısal hastalıklar, frengi, akıl hastalığı, epilepsi, histeri, dehidrasyon ve ishal gibi çok çeşitli bozuklukların tedavisinde kullanılmaktadır. Hint tıp sistemlerinde hafızayı güçlendirmek ve cilt hastalıkları ile sinir bozukluklarının tedavisi için kullanılmaktadır. Hindistan genelinde vücut ağrıları, baş ağrıları, delilik, astım, cüzzam, ülserler, egzamalar ve yara iyileşmesini içeren çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanıldığı bildirilmiştir. İçeriğindeki asiatik asit, asiaticoside ve madecassoside, flavonoidler ve terpenoidler açısından zengin olmanın yanı sıra farmakolojik değerden sorumlu ana bileşenleri oluşturur. *Centella* ayrıca uçucu yağlar (%0,1),

tanenler, fitosteroller, amino asitler ve şekerler dahil olmak üzere diğer bileşenleri de içerir. İçeriğindeki bu maddelerden dolayı antikanser, antibakteriyel, antifungal, antiinflamasyon, nöroproteksiyon, antioksidan, yara iyileşmesi ve antidepresan gibi belirgin aktiviteleri ortaya konmuştur (56). Ayrıca ateş düşürücü, idrar söktürücü, antiviral ilaç olarak, toplardamar yetmezliği tedavisinde, kaygıyı gidermede ve kanser önleyici ajan olarak önerilmektedir. Etki mekanizması, fibroblast proliferasyonunu teşvik etmeyi, asidik mukopolisakaritlerin yanı sıra kollajen sentezini arttırmayı, hücre içi fibronektin içeriğini ve germ tabakasındaki mitotik aktiviteyi arttırmayı, yeni oluşan derinin gerilme mukavemetini önemli ölçüde iyileştirmeyi ve ayrıca cildin inflamatuvar fazını inhibe etmeyi içerir (57).

Deri hastalıkları olan köpek ve kedilerde topikal madecassoside pomadın etkinliğini araştıran bir çalışmada, hem köpeklerde hem de kedilerde atopik dermatit gibi alerjik deri hastalıkları ve besin alerjisinin en sık görülen deri hastalığı olduğu bildirilmiş ve 7 günlük tedavi sonunda pomadın fayda sağladığı rapor edilmiştir (58). Farelerde atopik dermatitin oluşturulduğu bir çalışmada, *Centella asiatica*'nın topikal uygulaması, interlökin-4 ve interlökin-13 dahil olmak üzere çeşitli sitokinleri baskılayarak alerjik inflamasyonu azaltmış ve ayrıca immünoglobulin E salınımını da inhibe etmiştir (59). Ayrıca ata kuyruk altında oluşan bir yarada Madecassol pomat kullanılmış ve iyileşme gözlemlendiği bildirilmiştir (60). *Centella asiatica* 'nın tavşan kornea epitel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu üzerindeki etkilerinin in vitro yara iyileştirme modelinde değerlendirildiği bir çalışmada ekstraktın düşük konsantrasyonlarda eklenmesinin iyileşmeyi destekleyeceği bildirilmiştir (61).

3. Sonuç

Literatürde fitoterapi ile ilgili pek çok çalışma vardır. Yaptığımız araştırmalarda veteriner hekimlikte yara iyileşmesinde sık kullanılan bitkilerin; aloe vera, çay ağacı yağı, sarı kantaron, kudret narı, biberiye, aynısefa, yeşil çay, gotu kola olduğu gözlenmiştir. Bitkilerin kullanımına eski zamanlarda deneme yolu ile başlanmış günümüzde deneylere aktarılmış ve bu deneyler sonucunda bazıları preparatlaştırılmış ve ticari olarak kullanıma sunulmuştur. Veteriner hekimlikte yara iyileşmesinde fitoterapik bitkilerle ilgili her ne kadar çalışmaların çoğunluğu ratlarda ve tavşanlarda yapılmış olsa da kedi, köpek, buzağı gibi hayvanlarda yapılan çalışmalar sınırlıdır.

Kaynaklar

1. Dat AD, Poon F, Pham KB, Doust J. Aloe vera for treating acute and chronic wounds. Cochrane Database of Systematic Reviews 2012; 15: 1-26 . doi: 10.1002/14651858.cd008762.pub2
2. Shah A, Amini-Nik S. The role of phytochemicals in the inflammatory phase of wound healing. International Journal of Molecular Sciences 2017; 18: 1-17. doi: 10.3390/ijms18051068.

3. Farahpour MR. Medicinal plants in wound healing. Dogan KH.eds. In: Wound Healing-Current Perspectives. Croatia: Intechopen, 2019; pp. 33-47.
4. Dorai AA. Wound care with traditional, complementary and alternative medicine. Indian Journal of Plastic Surgery 2012; 45: 418-424. doi: 10.4103/0970-0358.101331.
5. Yazar H, Karaca İR. Yumuşak dokuda yara iyileşmesi, etkileyen faktörler ve skar revizyonu. Atatürk Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi. 2016; 15: 152-161.
6. Yalçın H, Özkalp B. Vücut Hijyeninin Önemi ve Yara Bakımında Yeni Gelişmeler. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi. Nisan, 20-24, 2005; Samsun-Türkiye.
7. Sançar B, Canbulat Ş, İlhan S. Yara Bakımında Kullanılan Bitkisel Yöntemler ve Hemşirelik. Türkiye Klinikleri Internal Medicine Nursing-Special Topics 2017; 3: 116-124.
8. De Almeida Neves AL, Komesu MC, Di Matteo MAS. Effects of green tea use on wound healing. Int j Morphol 2010; 28: 905-910. doi: 10.4067/S0717-95022010000300039.
9. Sharma P, Srivastava S, Kumar R, Singh V. Phytotherapy: An alternative low cost therapeutic management of endometritis in dairy animals: A review. Int J Curr Microbiol App Sci 2018; 7: 4581-4591.
10. Tresch M, Mevissen M, Ayrle H, Melzig M, Roosje P, et al. Medicinal plants as therapeutic options for topical treatment in canine dermatology? A systematic review. BMC Veterinary Research 2019; 15: 1-19. doi: 10.1186/s12917-019-1854-4.
11. Türsen B, Türsen Ü. Dermatolojide aloe vera. Dermatol, c. 2014; 5: 1-11. doi: 10.15624.dermatol14054d1.
12. Davis RH, Donato J, Hartman GM, Haas RC. Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in Aloe vera. Journal of the American Podiatric Medical Association 1994; 84: 77-81. doi: 10.7547/87507315-84-2-77.
13. Boudreau MD, Beland FA. An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (miller), Aloe vera. Journal of Environmental Science and Health Part C 2006; 24: 103-154. doi: 10.1080/10590500600614303.
14. Schäfer M, Werner S. Oxidative stress in normal and impaired wound repair. Pharmacological Research 2008; 58: 165-171. doi: 10.1016/j.phrs.2008.06.004.
15. Nejatizadeh-Barandozi F. Antibacterial activities and antioxidant capacity of Aloe vera. Organic and Medicinal Chemistry Letters 2013; 3: 1-8. doi: 10.1186/2191-2858-3-5.
16. Okyar A, Can A, Akev N, Baktir G, Sütülpinar N. Effect of Aloe vera leaves on blood glucose level in type I and type II diabetic rat models. Phytotherapy Research 2001; 15: 157-161. doi: 10.1002/ptr.719.
17. Takzare N, Hosseini M-j, Hasanzadeh G, Mortazavi H, Takzare A, et al. Influence of Aloe Vera gel on dermal wound healing process in rat. Toxicology Mechanisms and Methods 2009; 19: 73-77. doi: 10.1080/15376510802442444.
18. Sürme Y, Çürük GN. Yara Bakımında Fitoterapi: Çay ağacı yağı. ERÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi 2020; 7: 35-41.
19. Yadav E, Kumar S, Mahant S, Khatkar S, Rao R. Tea tree oil: a promising essential oil. Journal Of Essential Oil Research 2017; 29: 201-213. doi: 10.1080/10412905.2016.1232665.
20. Li X, Shen D, Zang Q, Qiu Y, Yang X. Chemical Components and Antimicrobial Activities of Tea Tree Hydrosol and Their Correlation With Tea Tree Oil. Natural Product Communications 2021; 16: 1-7. doi: 10.1177%2F1934578X211038390.
21. Tharmarajah B, Coroneo MT. Corneal Effects of Tea Tree Oil. Cornea 2021; 40: 1363-1364. doi:10.1097/ico.0000000000002776.
22. Rubianti MA, Ervianti E, Listiawan MY, Mira D, Indramaya R et al. Efficacy of 5% Tea Tree Oil Hydrogel on Healing Morbus Hansen's Chronic Plantar Ulcer. Age 2021; 13: 28-33.
23. Fitzi J, Fürst-Jucker J, Wegener T, Saller R, Reichling J. Phytotherapy of chronic dermatitis and pruritus of dogs with a topical preparation containing tea tree oil (Bogaskin®). Schweizer Archiv für Tierheilkunde 2002; 144: 223-231. doi: 10.1024/0036-7281.144.5.223
24. Weseler A, Geiss H, Saller R, Reichling J. Antifungal effect of Australian tea tree oil on Malassezia pachydermatis isolated from canines suffering from cutaneous skin disease. Schweizer Archiv für Tierheilkunde 2002; 144: 215-221. doi: 10.1024/0036-7281.144.5.215
25. Khan SA, McLean MK, Slater MR. Concentrated tea tree oil toxicosis in dogs and cats: 443 cases (2002–2012). Journal of the American Veterinary Medical Association 2014; 244: 95-99. doi: 10.2460/javma.244.1.95.
26. Bischoff K, Guale F. Australian tea tree (Melaleuca alternifolia) oil poisoning in three purebred cats. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 1998; 10: 208-210.
27. Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum L. Journal of Ethnopharmacology 2010; 131: 511-521. doi: 10.1016/j.jep.2010.07.034.
28. Samadi S, Khadivzadeh T, Emami A, Moosavi NS, Tafaghodi M, et al. The effect of Hypericum perforatum on the wound healing and scar of cesarean. The Journal of Alternative and Complementary Medicine 2010; 16: 113-117. doi: 10.1089/acm.2009.0317.
29. Altıparmak M, Eskitaşçıoğlu T. Comparison of systemic and topical Hypericum perforatum on diabetic surgical wounds. Journal of Investigative Surgery. 2018; 31: 29-37. doi: 10.1080/08941939.2016.1272654.
30. Seyhan N. Evaluation of the Healing Effects of Hypericum perforatum and Curcumin on Burn Wounds in Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2020; 2020: 1-5. doi: 10.1155/2020/6462956.
31. Gunpınar S, Kilic OA, Duran I, Tosun M, Firat T et al. Evaluation of the effect of topical Hypericum perforatum oil on excisional palatal wound healing in rabbits. Journal of Investigative Surgery 2020; 33: 49-58. doi: 10.1080/08941939.2018.1474980.
32. Carnevali F, Franchini D, Otranto D, Giangaspero A, Di Bello A et al. A formulation of neem and hypericum oily extract for the treatment of the wound myiasis by Wohlfahrtia magnifica in domestic animals. Parasitology Research 2019; 118: 2361-2367. doi: 10.1007/s00436-019-06375-x.
33. İskender İ, Çiğirgil N, Gümüştaş B, Güldü ÖK, Karaman D, Medine El et al. Geleneksel Olarak Yara Tedavisinde Kullanılan Kudret Narı (Momordica charantia L.) Zeytinyağı Maseratı Kullanılarak Krem Formunun Geliştirilmesi ve İn Vitro Yara İyileşmesinin Araştırılması. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2019; 12: 38-48. doi: 10.18185/erzifbed.487150.
34. Kisacık ÖG, Güneş ÜY. Yara iyileşmesinde kudret narının etkisi. Spatula DD. 2017; 7: 53-59. doi: 10.5455/spatula.20170628101821.
35. Ono T, Tsuji T, Sakai M, Yukizaki C, Ino H, et al. Induction of hepatocyte growth factor production in human dermal fibroblasts and their proliferation by the extract of bitter melon pulp. Cytokine 2009; 46: 119-126. doi: 10.1016/j.cyto.2008.12.016.
36. Kumar KS, Bhowmik D. Traditional medicinal uses and therapeutic benefits of Momordica charantia Linn. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 2010; 4: 23-28.

37. Altinterim B. Bitter melon (*Momordica charantia*) and the effects of diabetes disease. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2012; 26: 65-70.
38. Pişkin A, Altunkaynak BZ, Tümentemur G, Kaplan S, Yazıcı ÖB, et al. The beneficial effects of *Momordica charantia* (bitter gourd) on wound healing of rabbit skin. *Journal of Dermatological Treatment* 2014; 25: 350-357. doi: 10.3109/09546634.2012.713459.
39. Malayoğlu HB. Biberiyenin (*Rosmarinus officinalis* L.) antioksidan etkisi. *Hayvansal Üretim* 2010; 51: 59-67.
40. Erkan N, Ayrancı G, Ayrancı E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry* 2008; 110: 76-82. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.01.058.
41. De Macedo LM, Santos ÉMd, Militão L, Tundisi LL, Ataide JA, Souto EB, et al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and its topical applications: a review. *Plants* 2020; 9: 1-12. doi: 10.3390/plants9050651.
42. Nejati H, Farahpour MR, Nagadehi MN. Topical Rosemary officinalis essential oil improves wound healing against disseminated *Candida albicans* infection in rat model. *Comparative Clinical Pathology* 2015; 24: 1377-1383. doi: 10.1007/s00580-015-2086-z.
43. Pazyar N, Yaghoobi R, Rafiee E, Mehrabian A, Feily A. Skin wound healing and phytochemistry: a review. *Skin Pharmacology and Physiology* 2014; 27: 303-310. doi: 10.1159/000357477.
44. Bakırel T, Bakırel U, Keleş OÜ, Ülgen SG, Yardibi H. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* 2008; 116: 64-73. doi: 10.1016/j.jep.2007.10.039.
45. Juhas S, Bukovska A, Cikos S, Czikkova S, Fabian D, et al. Anti-inflammatory effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil in mice. *Acta Veterinaria Brno* 2009; 78: 121-127. doi: 10.2754/avb200978010121.
46. Yılmaz R, Özyıldız Z, Temmaoğulları F, Hayat A. The Effects of Rosemary (*Rosemarinus officinalis*) Extract on Wound Healing in Rabbits. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilim Dergisi* 2012; 26: 105-109.
47. Muley B, Khadabadi S, Banarase N. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (*Asteraceae*): a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2009; 8: 455-465. doi: 10.4314/tjpr.v8i5.48090.
48. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews* 2000; 52: 673-751.
49. Givol O, Kornhaber R, Visentin D, Cleary M, Haik J, Harats M. A systematic review of *Calendula officinalis* extract for wound healing. *Wound Repair and Regeneration* 2019; 27: 548-561. doi: 10.1111/wrr.12737.
50. Nicolaus C, Junghanns S, Hartmann A, Murillo R, Ganzera M et al. In vitro studies to evaluate the wound healing properties of *Calendula officinalis* extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 2017; 196: 94-103. doi: 10.1016/j.jep.2016.12.006.
51. Mehrabani D, Ziaei M, Hosseini S, Ghahramani L, Bananzadeh A, et al. The effect of *Calendula officinalis* in therapy of acetic acid induced ulcerative colitis in dog as an animal model. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2011; 13: 884.
52. Mishra AK, Mishra A, Chattopadhyay P. Screening of acute and sub-chronic dermal toxicity of *Calendula officinalis* L essential oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2018; 98: 184-189. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.07.027.
53. Fujihara T, Nakagawa-Izumi A, Ozawa T, Numata O. High-molecular-weight polyphenols from oolong tea and black tea: purification, some properties, and role in increasing mitochondrial membrane potential. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 2007; 71: 711-719. doi: 10.1271/bbb.60562.
54. Kim B-R, Cheong J-T, Park H-J, Yun Y-M, Lee K-K, et al. Effect of green tea extract on healing of contaminated wound in dogs. *Journal of Veterinary Clinics* 2007; 24: 550-556.
55. Chang H-S, Hwang H-J, Kang E-H, Lee J-H, Chung D-J, et al. The effect of green tea bag in dogs with periodontal disease. *Journal of Veterinary Clinics* 2009; 26:41-47.
56. Prakash V, Jaiswal N, Srivastava M. A review on medicinal properties of *Centella asiatica*. *Asian J Pharm Clin Res* 2017; 10: 69. doi: 10.22159/ajpcr.2017.v10i10.20760.
57. Bylka W, Znajdek-Awizeń P, Studzińska-Sroka E, Brzezińska M. *Centella asiatica* in cosmetology. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii I Alergologii* 2013; 30: 46. doi: 10.5114%2Fpdia.2013.33378.
58. Ro W-b, Kang M-h, Song D-w, Kim H-s, Lee G-w, et al. Application of Topical Madecassoside Cream in Dogs and Cats with Skin Diseases. *Journal of Veterinary Clinics* 2021; 38: 56-62. doi: 10.17555/jvc.2021.04.38.2.56.
59. Ho PJ, Sung JJ, Cheon KK, Tae HJ. Anti-inflammatory effect of *Centella asiatica* phytosome in a mouse model of phthalic anhydride-induced atopic dermatitis. *Phytomedicine* 2018; 43: 110-119. doi: 10.1016/j.phymed.2018.04.013.
60. Akgül MB, Başer E, Gülaydın A, Şındak N. Bir ata blanket'e bağlı kuyruk yaralanması olgusu. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016; 35: 49-52.
61. Ruszymah BHI, Chowdhury SR, Manan NABA, Fong OS, Adenan MI, Saim AB. Aqueous extract of *Centella asiatica* promotes corneal epithelium wound healing in vitro. *Journal of Ethnopharmacology* 2012; 140: 333-338. doi: 10.1016/j.jep.2012.01.023.



Kırık İyileşmesinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisinin Kullanılması

Ferda TURGUT¹, Ayşe GÖLGELİ BEDİR¹

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Erzurum/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 08.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 01.11.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Turgut F, Bedir AG. Kırık İyileşmesinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisinin Kullanılması. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):80-84.

Özet: Veteriner hekimlikte kullanıma giren terapötik lazerler, noninvaziv ve ilaçsız bir tedavi yöntemi olması bakımından günümüzde yaygınlaşmaya başlamıştır. Lazer, yoğun, tek renkli, uyumlu ve yüksek oranda paralelleştirilmiş ışık demeti üreten bir cihazdır. Dalga boylarına göre düşük seviyeli (yumuşak lazer), orta seviyeli (mid lazer) ve yüksek seviyeli lazer (sert veya sıcak lazer) olmak üzere üç farklı grupta incelenebilmektedir. Lazerler, yara iyileşmesi doku nekrozu, osteoartrit, romatoid artrit, miyofasiyal ağrı, kırık iyileşmesi ve tendo-ligament yaralanmaları gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir. Düşük seviyeli lazer terapisinin (LLLT) kırıklarda osteoblastik aktiviteyi, kan damarı sayısını ve mineralize kemik miktarını artırarak kırık iyileşmesini hızlandırdığı rapor edilmiştir. LLLT, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla kırıkların iyileşmesini ve kallus oluşumunu hızlandırarak kırık onarım sürecini kısaltmaya yönelik kullanılan bir terapi şeklidir. Lazerin kırık iyileşmesi üzerindeki etkisi tartışmaya açıktır. Terapötik etkilerinin netleştirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ağrı, Düşük seviyeli lazer terapisi, Kırık iyileşmesi, Yangı

Use of Low Level Laser Therapy for Fracture Healing

Abstract: Therapeutic lasers, which have been used in veterinary medicine, have started to become widespread today in terms of being a noninvasive and drug-free treatment method. A laser is a device that produces an intense, monochromatic, coherent and highly parallelized beam of light. It can be examined in three different groups according to wavelengths: low level (soft laser), medium level (mid laser) and high level laser (hard or hot laser). Lasers have a wide range of uses such as wound healing, tissue necrosis, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, myofascial pain, fracture healing and tendon-ligament injuries. It has been reported that low-level laser therapy (LLLT) accelerates fracture healing by increasing osteoblastic activity, number of blood vessels and amount of mineralized bone in fractures. LLLT is a form of therapy used to shorten the fracture repair process by accelerating the healing of fractures and callus formation through various mechanisms. The effect of laser on fracture healing is open to discussion. More studies are needed to clarify its therapeutic effects.

Keywords: Pain, Low-level laser therapy, Fracture healing, Inflammation

1. Giriş

Veteriner hekimlikte çeşitli amaçlar için kullanılan lazer terapisi, klinik pratiğe hızlı bir giriş yapmıştır. Lazerin kullanımı çok uzun yıllar öncesine dayanmasına rağmen veteriner sahada son 5 yılda yaygınlık kazanmıştır. Lazerin daha sık olarak kullanılmasındaki temel nedenlerin; veteriner rehabilitasyon hizmetlerinin yaygınlaşması, terapötik olarak lazerin kullanılmasıyla ilgili eğitimlerin artması ve daha tutarlı klinik sonuçların alınmaya başlanması olduğu öne sürülmektedir. Lazer terapisinin noninvaziv oluşu ve ilaç kullanımına alternatif olması gibi etkenler bu yöntemin pek çok klinisyen tarafından ilaçsız tedavi protokolü olarak tercih edilmesine neden olmuştur (1).

Lazer kelimesi, “Uyarılmış Radyasyon Emisyonu ile Işık Amplifikasyonu” kelimelerinin İngilizce karşılıklarının (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation-LASER) baş harfleri ile yapılan kısaltma olarak kullanılır

(2). Lazer ışığı tek renkli ve doğrusal hareket ettiği için diğer ışık kaynaklarından daha güçlüdür. Düşük seviyeli lazer terapisi (LLLT), doku rejenerasyonunu desteklemek, yangıyı azaltmak ve ağrıyı hafifletmek amacıyla kullanılan biyolojik bir ışık kaynağıdır. Çoğu terapötik ajanın aksine termal bir etkisi yoktur, bunun yerine ışığın emildiği ve kimyasal bir değişikliğe neden olduğu anlamına gelen fotokimyasal bir etkiye sahiptir (3). Lazerin ortalama gücü 1 ile 500 mW, dalga boyu ise 600 ila 1000 nm arasında değişmektedir (2). Kullanım alanlarına göre lazerler; Cerrahi lazerler (CO₂ lazer, Nd: YAG lazer, Ho: YAG lazer, Er: YAG lazer, Argon lazer, Copper vapor lazer, KTP lazer frequency doubled ND: YAG, Ruby lazer, Alexandrite Lazer, Stronger types of GaAIA's lazer, Dyr lazer, Ti; safir lazer, Excimer lazer) ve sadece vücudun normal fizyolojik süreçlerini uyarmak amacıyla kullanılan terapötik lazerler (HeNe lazer 633nm Gaz lazer, InGaAIP lazer 633-700 nm Yarı iletken lazer, GaAIA's lazer 780-890 nm Yarı iletken lazer, Defocused CO₂- lazer 10600 nm Gaz lazer, Defocused Ruby 694 Katı hal lazer, Defocused Nd: YAG

lazer 1064 Katı hal lazer) olmak üzere iki grupta değerlendirilmektedir (4).

Lazer terapi bir başka sınıflandırmada; düşük (yumuşak lazer), orta (mid lazer) ve yüksek seviyeli (sert veya sıcak lazer) lazer şeklinde üç farklı grupta incelenmektedir (5). Düşük seviyeli lazerler; helyum neon gazını kullanırlar. Transkutan ışınlamada en uygun lazer tipidir ve 632.8 nm dalga boyuna sahiptir. Aralıklı ve devamlı uygulanabilen bu lazer tipi, emniyetli ve pratiktir (6). Orta seviyeli lazerler (mid) (yarı iletken lazerler); aktif madde olarak galyum alüminyum arsenid maddesini kullanırlar. Bazı sınıflandırma şekilleri orta seviyeli lazerleri düşük kategoriye alabilmektedir (7). Yüksek seviyeli lazerler; (sert veya sıcak) daha sık olarak cerrahi girişimler için kullanılmaktadır; argon, karbondioksit ve neodyum YAG (yitrium alüminyum okside garnet) gibi çeşitleri vardır. Argon lazer göz hastalıklarında, karbondioksit lazer ise çoğunlukla mikrocerrahide kullanılmaktadır (5).

Lazerler, yara iyileşmesi, doku nekrozu, sinir hasarı, osteoartrit, romatoid artrit, miyofasiyal ağrı, kırık iyileşmesi, tendo-ligament yaralanmaları, ameliyat sonrası ensizyon bakımı ve kronik ağrı yönetimi gibi durumlarda terapötik amaçla kullanılmaktadır (2).

2. Etki mekanizması

Düşük seviyeli lazer terapisinin etki mekanizması tam olarak belirlenememiş olmasına rağmen, prostaglandin E2'yi, interlökin-1 beta'yı tümör nekroz faktörünü ve bölgeye gelen nötrofil göçünü azaltarak, ödemi dolayısıyla yangı ile ilişkili ağrıyı hafifletebileceği bildirilmiştir (8). LLLT'nin dozu 0,3 ile 19 J/cm² arasında değişebilmekle birlikte, düşük dozda hücreler üzerinde uyarıcı, yüksek dozda ise hücreler üzerinde baskılayıcı etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir (7,9). Aynı zamanda mikro sirkülasyon üzerine etki ederek kapillar hidrostatik basıncı değiştirip ödemi azalttığı bildirilmiştir (10). LLLT için ideal doz, granülasyon dokusu oluşumuna katkıda bulunabilecek ve iyileşmeyi hızlandırarak yeni endotel oluşumu ve kanlanmaya yol açabilecek dozdur (2).

2.1. Mitokondriyon aktivitesinin uyarılması

Düşük seviyeli lazer terapisinin fizyolojik etkilerinin çoğunun altında yatan etki mekanizması elektron transferidir. Bu etkisini sitokrom oksidaz yolunda daha verimli elektron transferini uyarması aracılığıyla gerçekleştirdiği belirtilmiştir. Ayrıca hücreler mitokondriyonda bulunan bir enzim olan sitokrom c ve adozin trifosfat sentezinde önemli bir rol oynar (11). Mitokondri, çoğu hücre için birincil enerji depolama merkezidir. Sitokrom c oksidaz, heme a ve heme a₃ (sitokrom a ve a₃ olarak da adlandırılır) olmak üzere iki demir merkezi ve bakır A ve bakır B olmak üzere iki bakır merkezi içerir. Sitokrom c oksidazın bir kısmı, yakın

kızılötesi spektrumunda dalga boylarında hareket eden fotonlardan enerjiyi emen, elektron transferini hızlandıran ve mitokondrinin ATP sentezleme kapasitesini artıran bir kromofor (ışığa duyarlı molekül) gibi etki göstermektedir. Böylece daha fazla ATP üretimi ve hücrenin metabolik süreçleri için daha fazla enerji sağlanmış olduğu bildirilmiştir (2).

2.2. Anjiyogenez üzerine etkisi

Terapötik lazer uygulamasının, vasküler endotel gelişimini ve anjiyogenezi desteklediği bildirilmiştir (12). Bu özellik, doku iyileşmesinin desteklemek için önemli olsa da vaskülarizasyonun fazla olduğu dokularda bir dezavantaj yaratabilir (tümör gibi yüksek vasküler dokulara lazer uygulaması kontrendikedir) (2).

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, LLLT'nin 633 nm dalga boyunun 904 nm dalga boyuna göre anjiyogenezi daha fazla uyardığı ortaya konulmuştur (12). Benzer şekilde, 660 nm ve 780 nm dalga boyunun anjiyogenez oluşumunu arttırdığı ancak daha kısa dalga boyunun sadece daha yüksek dozlarda, daha uzun dalga boyunun ise hem yüksek hem de düşük dozlarda etkili olduğu rapor edilmiştir (13). Sonuç olarak anjiyogenez oluşumu ile lazerin dalga boyu arasında güçlü bir ilişki olduğu belirtilmiştir.

2.3. Yangı modülasyonu

Düşük seviyeli lazer tedavisi, sadece makrofaj ve nötrofil aktivitesini arttırmakla kalmaz, aynı zamanda spesifik yangısal mediyatörlerin salınımını da uyarır. Ayrıca, kollajen sentezini ve hücre proliferasyonunu baskılayan yangısal mediyatörleri de inhibe eder. LLLT, kronik olarak yangılı dokulara nötrofil akışını azalmasının yanında siklooksijenaz 1 (COX-1) ve siklooksijenaz 2 (COX-2) gibi antiinflamatuvar mediyatörlerin üretimini uyarabilir (1). Lazer ayrıca ödemin hafifletilmesine yardımcı olur (9) ve yangılı dokulardaki besin alışverişini geciktirir (2).

2.4. Dokulardaki oksijen üretimi üzerine etkisi

Düşük seviyeli lazer terapisinin kılcal damarlarda oksijenin oksihemoglobinden ayrılmasını teşvik ettiği belirtilmektedir (2,14). Bu etkinin oksidatif metabolizma ile ATP üretimi için daha fazla oksijen sağladığı ileri sürülmektedir. Yapılan bir çalışmada 0,23 J/cm² dozda 633 nm dalga boyunda kullanılan LLLT sonrası, hastaların cildinde oksijen seviyelerinin arttığını rapor edilmiştir (14). Zira, bir başka çalışmada ise 15 dakika süreyle, 5,73 J/cm² dozda 660 nm dalga boyunda kullanılan LLLT'nin insan derisindeki serbest oksijen seviyelerinde herhangi bir değişiklik yapmadığı bildirilmiştir (15). Literatürde bu konuyla ilgili bilgi kısıtlıdır ve tartışmalı sonuçlar sunulmuştur. Yeterli ve uygun materyal ve metot ile kurulmuş çalışmalar bu konuda ayrıntılı bilgiler sunacaktır.

2.5. Vazodilatör etkisi

Düşük seviyeli lazer terapisi, düz kaslarda gevşemeyi sağlayarak (vazodilatasyon) lokal dolaşımı arttırmaktadır (2). Yapılan bir çalışmada LLLT'nin akut cerrahi yaralarda vazodilatasyonu artırdığı (16), bir başka çalışmada ise sağlıklı dokuların lokal dolaşımında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı kaydedilmiştir (15). Öte yandan LLLT'nin eritrosit molekülünü deforme edebileceğini ve periferik kılcal yatlardan eritrosit akış hızını yükselterek kırmızı kan hücreleri içindeki hemoglobin molekülünün mevcudiyetini artırabileceği de öne sürülmüştür (17).

3. Kırık iyileşmesi ve lazer

Kemik rejenerasyonunu arttırmaya yönelik mevcut klinik yaklaşımlar, distraksiyon osteogenezi, kemik grefti ve biyofiziksel stimülasyon yoluyla kırık iyileşmesini içermektedir (18). Biyofiziksel stimülasyon, noninvaziv doğası nedeniyle non-union gibi kemik bozukluklarının tedavisinde başka bir ilgi noktasıdır. Hızlandırılmış kemik rejenerasyonunu destekleyebilen noninvaziv stimülasyon yöntemleri, aralıklı elektromanyetik alan (PEMF), fotobiyomodülasyon (PBM), ve düşük yoğunluklu aralıklı ultrasonu (LIPUS) içermektedir (19,20). Bu cihazların kemik iyileşmesine yardımcı olduğu, ağrı ve yangıyı azalttığı bildirilmesine rağmen (20) etkinliklerinin stimülasyon parametrelerine ve uygulama yöntemine bağlı olarak değişiklik göstermesinin uygulanma aşamasında bazı tartışmaları beraberinde getirdiği de bilinmektedir. Mevcut çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki heterojenlik, tüm stimülasyon modalitelerinin daha iyi standardize edilmesi gerektiğini göstermektedir (21).

Işık ya da lazer yayan tedavi biçimleri PBM olarak adlandırılır. PBM, yara iyileşmesi, kemik rejenerasyonu, ağrının azaltılması veya yangıyı hafifletme gibi terapötik faydalar sağlamak için tipik olarak kırmızı ve yakın kızılötesi ışık gibi belirli dalga boylarında uygulanmaktadır (22,23). PBM ayrıca ortodontide intrüzyonu hızlandırmak (24,25) diş çekildikten sonra kemik iyileşmesini hızlandırmak (26) ve diş hassasiyetini tedavi etmek için de kullanılır (27). PBM'in ortopedik cerrahi modellerinde, kırıklarda, kemik defektlerinde ve osteoporozda kemik rejenerasyonunu desteklediği kaydedilmiştir (22,28).

Fotobiyomodülasyonun kırık iyileşmesinde iyileşme sürecini hızlandırma, gecikmiş ve non-union kırıkların insidansını azaltma gibi avantajlarının olduğu kaydedilmiştir. Otolog kemik greftleri, non-union kırıklarda altın standart olarak kabul edilmesine rağmen PBM ile kıyaslandığında oldukça invaziv bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. PEMF ve LIPUS gibi daha güncel biyofiziksel stimülasyon tedavileri, alternatif ve daha iyi araştırılmış invaziv olmayan seçenekler olarak bilinmektedir, ancak sistematik incelemelere bağlı olarak

etkinlikleri ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gerektiği belirtilmektedir (29,30).

Non-union veya kemik kayıpları için kapsamlı araştırmalara tabi tutulan diğer tedavi yöntemleri arasında sentetik biyomateryallerin, kök hücrelerin ve biyoaktif molekül mühendisliği yer almaktadır. Bu yöntemler, osteojenik etkilerini daha da arttırmak amacıyla PBM ile birlikte kullanılabilirler. Yapılan bir çalışmada, biyoaktif doku mühendisliğindeki amacın doğal kemik yapısını temsil eden yapıları ve osteojenik hücreleri geliştirmek olduğu belirtilmiştir (31). Bu nedenle biyomühendislik dokularında osteojenik hücreler ve biyoaktif moleküler katkı maddelerinde doku yenilenmesine teşvik etmek için birleştirici bir yöntem olarak PBM kullanılabilir (21).

Küçük hayvanlarda PBM uygulamasının, erken evrelerde kırık iyileşmesini kolaylaştırmasına rağmen zayıf biyomekanik özelliklere sahip olduğuna da dikkat çekilmiştir. Bu nedenle PBM'nin insanlardaki non-union kırıklarında olduğu gibi sadece zayıf kemik oluşumu olan vakalarda kullanılması önerilmiştir (32). Başka çalışmalarda, daha yüksek enerji yoğunluklu lazerlerin kullanılmasının PBM ile tedavi edilen kırıkların iyileşme süresini kısalttığı da bildirilmiştir (33,34). Ortaya konulan sonuçlar arasındaki bu farkların, çalışmaların kalitesinden ve bu çalışmalarda uygulanan dozlar ile yöntemlerin değişkenliğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (21). LLLT'nin yumuşak dokularda, dalga boyuna, dozuna ve lokal duruma bağlı olarak, antiinflamatuvar bir etki gösterdiği, dolayısıyla ağrıyı azalttığı ve hücrelerin çoğalmasını sağlayarak iyileşme sürecini hızlandırdığı bildirilmektedir (35) Yapılan bir çalışmada LLLT'nin kemik kırıklarında osteoblastik aktiviteyi, kan damarı sayısını ve mineralize kemik miktarını artırarak iyileşmeyi hızlandırdığı tespit edilmiştir (36). Ayrıca kalsifikasyon ile olan korrelasyonundan dolayı kemik formasyonunda önemli bir belirteç olarak kabul edilen ALP aktivitesinde lazer uygulamasından sonra artış görülmüştür (37).

4. Sonuç

Düşük seviyeli lazer terapisinin kırıklar üzerindeki etkisi gün geçtikçe daha yaygın bir şekilde araştırılmaktadır. Mevcut çalışmaların çoğunda lazerin, kırık iyileşmesini hızlandırdığı, ağrıyı azalttığı ve hücre çoğalmasını teşvik ettiği rapor edilmesine rağmen bunun aksini kaydeden araştırmacılar da bulunmaktadır. Bu görüş farklılıklarının, lazer terapisinin uygulama dozunda bir standart yakalanamaması nedeniyle doz aralığının belirlenememesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Doz aralığının belirlenmesi ve terapötik etkilerinin ortaya konulması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu bir gerçektir. Tedavi protokollerinde standardizasyonu sağlamak için dalga boyunun ve tedavi süresinin de belirlenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Pryor B, Millis DL. Therapeutic laser in veterinary medicine. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2015; 45: 45-56. doi: 10.1016/j.cvsm.2014.09.003.
2. Bhagyashree RK, Amit AA, Amit BS, Kshitij VP, Chetan PR. Low-level Laser Therapy: A Literature Review. *International Journal of Laser Dentistry* 2015; 5: 1-5. doi: 10.5005/jp-journals-10022-1064.
3. Farivar S, Malekshahi T, Shiari R. Biological effects of low level laser therapy. *Journal of Lasers in Medical Sciences* 2014; 5: 8-63.
4. Singh SC, Zeng H, Guo C, Cai W. *Nanomaterials: processing and characterization with lasers*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag & Co. KGa, 2012; p.96.
5. Boyraz İ, Yıldız A. Lazer Çeşitleri ve yüksek yoğunluklu lazer kullanımı. *Çağdaş Tıp Dergisi*. 2017; 6: 104-109. doi: 10.16899/ctd.55797.
6. Sarı H, Tüzün Ş, Akgün K. *Hareket Sistemi Hastalıklarında Fiziksel Tıp Yöntemleri*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; p.86.
7. Alper S. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon* In: Mehmet Beyazova, Yeşim Gökçe Kutsal. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon* 201; p. 823-826.
8. Gordon SA, Surrey K. Red and far-red action on oxidative phosphorylation. *Radiation Research* 1960; 12: 325-339. doi: 10.2307/3571041.
9. Lubart R, Eichler M, Lavi R, Friedman H, Shainberg A. Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity. *Photomedicine and Laser Therapy* 2005; 23: 3-9. doi: 10.1089/pho.2005.23.3.
10. Yamada EF, Villaverde AGJB, Munin E, Zangaro RA, Pacheco MTT. Effect of low-power laser therapy on edema dynamics: sensing by using the electrical capacitance method. *Laser Interaction with Tissue and Cells* 2004; 5319: 355-362. doi: 10.1117/12.528105.
11. Kato M. Cytochrome oxidase is a possible photoreceptor in mitochondria. *Photobiochem Photobiophys* 1981; 2: 263-269.
12. Dourado DM, Favero S, Matias R, Carvalho PdTC, Cruz-Höfling MA. Low-level laser therapy promotes vascular endothelial growth factor receptor-1 expression in endothelial and nonendothelial cells of mice gastrocnemius exposed to snake venom. *Photochemistry and Photobiology* 2011; 87: 418-426. doi: 10.1111/j.1751-1097.2010.00878.x.
13. Cury V, Moretti AIS, Assis L, Bossini P, Crusca JdSC, et al. Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats mediated by VEGF, HIF-1 α and MMP-2. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2013; 125: 164-170. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2013.06.004.
14. Asimov M, Thanh NC. Laser-induced photodissociation of oxyhemoglobin: Optical method of elimination of hypoxia (oxygen deficiency in biotissue). *Optics and Spectroscopy* 2011; 111: 224-229. doi: 10.1134/S0030400X11080066.
15. Heu F, Forster C, Namer B, Dragu A, Lang W. Effect of low-level laser therapy on blood flow and oxygen-hemoglobin saturation of the foot skin in healthy subjects: a pilot study. *Laser Therapy* 2013; 22: 21-30. doi: 10.5978/islsm.13-OR-03.
16. Pereira MCM, de Pinho CB, Medrado ARP, de Araujo Andrade Z, Almeida Reis SR. Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and vascular response of cutaneous injuries. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2010; 98: 188-192. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2009.12.005.
17. Mi X, Chen J, Zhou L. Effect of low power laser irradiation on disconnecting the membrane-attached hemoglobin from erythrocyte membrane. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2006; 83: 146-150. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2005.12.018.
18. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Medicine* 2011; 9: 1-10. doi: 10.1186/1741-7015-9-66.
19. Chao E, Inoue N. Biophysical stimulation of bone fracture repair, regeneration and remodelling. *Eur Cell Mater* 2003; 6: 72-85. doi: 10.22203/eCM.v006a07.
20. Massari L, Benazzo F, Falez F, Perugia D, Pietrogrande L. et al. Biophysical stimulation of bone and cartilage: state of the art and future perspectives. *International Orthopaedics* 2019; 43: 539-551. doi: 10.1007/s00264-018-4274-3.
21. Cheng W, Yao M, Sun K, Li W. Progress in Photobiomodulation for Bone Fractures: A Narrative Review. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery* 2020; 38: 260-271. doi: 10.1089/photob.2019.4732.
22. Chiari S. Photobiomodulation and lasers. *Frontiers of Oral Biology* 2016; 18: 118-123. doi: 10.1159/000351906.
23. Gavish L, Hourel NN. Therapeutic efficacy of home-use photobiomodulation devices: a systematic literature review. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery* 2019; 37: 4-16. doi: 10.1089/photob.2018.4512.
24. Fernandes MR, Suzuki SS, Suzuki H, Martinez EF, Garcez AS. Photobiomodulation increases intrusion tooth movement and modulates IL-6, IL-8 and IL-1 β expression during orthodontically bone remodeling. *Journal of Biophotonics* 2019; 12: 1-10. doi: 10.1002/jbio.201800311.
25. Yang H, Liu J, Yang K. Comparative study of 660 and 830 nm photobiomodulation in promoting orthodontic tooth movement. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery* 2019; 37: 349-355. doi: 10.1089/photob.2018.4615.
26. Kulkarni S, Meer M, George R. Efficacy of photobiomodulation on accelerating bone healing after tooth extraction: a systematic review. *Lasers in Medical Science* 2019; 34: 685-692. doi: 10.1007/s10103-018-2641-3.
27. Gokov-Vukelic M, Hadzic S, Zukanovic A, Pasic E, Pavlic V. Application of diode laser in the treatment of dentine hypersensitivity. *Medical Archives* 2016; 70: 466. doi: 10.5455/medarh.2016.70.466-469.
28. Huang X, Das R, Patel A, Nguyen TD. Physical stimulations for bone and cartilage regeneration. *Regenerative Engineering and Translational Medicine* 2018; 4: 216-237. doi: /10.1007/s40883-018-0064-0.
29. Walker NA, Denegar CR, Preische J. Low-intensity pulsed ultrasound and pulsed electromagnetic field in the treatment of tibial fractures: a systematic review. *Journal of Athletic Training* 2007; 42: 530.
30. Schandelmaier S, Kaushal A, Lytvyn L, Heels-Ansdell D, Siemieniuk RA, et al. Low intensity pulsed ultrasound for bone healing: systematic review of randomized controlled trials. *BMJ* 2017; 356.: 1-16. doi: 10.1136/bmj.j656.
31. Amini AR, Laurencin CT, Nukavarapu SP. Bone tissue engineering: recent stem cells current stage and future perspectives. *Biomaterials* 2018; 180: 143-162.
32. Shakouri SK, Soleimanpour J, Salekzamani Y, Oskuie MR. Effect of low-level laser therapy on the fracture healing process. *Lasers in Medical Science* 2010; 25: 73-77. doi: 10.1007/s10103-009-0670-7.

33. Leo JA, Cunha Ad, Oliveira EFdO, Prado RP. Effect of low-level laser (GaAs, 904 nm) for bone repair on fractures in rats. *Revista Brasileira de Ortopedia* 2012; 47: 235-240. doi: 10.1016/S2255-4971(15)30092-6.
34. Mostafavinia A, Farahani RM, Abbasian M, Farahani MV, Fridoni M, et al. Effect of pulsed wave low-level laser therapy on tibial complete osteotomy model of fracture healing with an intramedullary fixation. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2015; 17: 12 doi: 10.5812/ircmj.32076.
35. Junior S, Aurelicio N, Pinheiro A, Oliveira L, Weismann G, et al. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 2002; 20: 83-87. doi: 10.1089/104454702753768061.
36. Trelles M, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers in Surgery and Medicine* 1987; 7: 36-45. doi: 10.5812/ircmj.32076.
37. İlman AA. Tavşanlarda kırık iyileşmesinde helyum-neon (He-Ne) ve galyum-alüminyum-arsenit (Ga-Al-As) lazerin kallus formasyonu ve mineral yoğunluğu üzerine etkilerinin deneysel araştırılması, Doktora tezi, Uludağ Üniv Sağ Bil Ens, Bursa 2005; s.26-27. (thesis in Turkish with an English abstract).



Sığır Mastitislerinde Yaz Mastitisinin Yeri*

 Ayşe Birsen GÖKALP¹✉

¹ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 11.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 05.11.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Gökçalp AB. Sığır Mastitislerinde Yaz Mastitisinin Yeri. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):85-95.

Özet: Mastitis, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde halen yaygınlığını koruyan bir enfeksiyondur. Sığırlarda görülen mastitisin, sadece meme bezine bağlı bir enfeksiyon olmadığı aynı zamanda sütün kalitesini ve miktarını düşürerek, süt endüstrisini de olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Yönetim stratejilerinin geliştirilememesi, ortamdaki hijyenin sağlanamaması, sütteki yapısal değişikliklerin takip edilememesi ve eğitilmiş personelin olmaması ile birlikte erken tanı ve tedavinin yapılamaması gibi nedenler hazırlayıcı faktörler arasındadır. Genel olarak mastitise neden olan mikroorganizmalar, bulaşıcı ve çevresel etkenler olarak sınıflandırılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar ile birlikte yaz mastitisi etkenleri de bu sınıflandırmaya dahil edilmektedir. Mastitise neden olan patojen mikroorganizmalar, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus* spp. gibi hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerden oluşmaktadır. Yaz mastitisine neden olan mikroorganizmaların ise *Trueperella pyogenes*, *Peptococcus indolicus* ve *Streptococcus dysgalactiae* gibi Gram pozitif, fakültatif anaerob bakteriler olduğu görülmektedir. Mastitis semptomları arasında, sütte yapısal değişiklikler, memede ısı artışı, ağrı ve ödem görülürken, yaz mastitisi semptomlarında ise özellikle *Hydrotaea irritans* sineklerinin meme başında yapmış olduğu tutulumdan dolayı kötü kokulu akıntılar görülmektedir. Sütün organoleptik muayenesinden sonra direkt mikrobiyolojik analizlerinin yapılması, mastitisin erken tanısı, tedavisi, yönetimi ve önlenmesi için gereklidir. Etken izolasyon ve identifikasyonu ile birlikte antibiyotik duyarlılık testi, yapılacak olan tedavinin etkinliğini artırmaktadır. Hijyen koşullarının sağlanması ile birlikte hayvanların genel durumlarının ve süt verimlerinin takibi mastitisten korunmada etkilidir. Temmuz-eylül ayları arasında sinek kontrolü için dökme veya sprey preparatların kullanılması, sağım sonrası hijyen ve meme başı dolgu macunlarının uygulanması yaz mastitisinden korunmada önemlidir. Sonuç olarak yaz mastitislerine sığır mastitislerinin genel değerlendirilmesinde yer verilmelidir. Mastitisin tedavi öncesi ve sonrası mikrobiyolojik analizlerin yaygınlaştırılması önemini korumaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bulaşma, Mastitis, Tanı, Tedavi, Yaz mastitisi

The Role of Summer Mastitis in Bovine Mastitis

Abstract: Mastitis is an infection that still maintains its prevalence in developed and developing countries. It is known that mastitis in cattle is not only an infection due to the mammary gland, but also negatively affects the dairy industry, reducing the quality and quantity of milk. Failure to develop management strategies, ensure ambient hygiene, follow structural changes in milk and lack of trained personnel as well as inability to make early diagnosis and treatment are among the predisposing factors. In general, the agents of mastitis are classified as contagious and environmental. Along with recent research, factors of summer mastitis are also included in this classification. Pathogenic microorganisms causing mastitis, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus* spp. consists of both Gram-positive and Gram-negative bacteria. It is seen that the microorganisms causing summer mastitis are Gram-positive, facultative anaerobic bacteria such as *Trueperella pyogenes*, *Peptococcus indolicus*, and *Streptococcus dysgalactiae*. Symptoms of mastitis include structural changes of milk, increased breast heat, pain and edema, while summer mastitis symptoms show malodorous discharge, especially due to the involvement of *Hydrotaea irritans* flies in the teat. Direct microbiological analysis of milk after organoleptic examination is essential for early diagnosis, treatment, management and prevention of mastitis. Analysis of antibiotic sensitivity along with isolation and identification of factors increases the effectiveness of the treatment. Monitoring daily milk texture, body condition of cattle as well as conducting sanitation of farm are important to prevent mastitis. Use of pouring or spray preparations for fly control from July to September, post-milking hygiene and application of teat fillers are important in preventing summer mastitis. As a result, summer mastitis, which is included in mastitis, should be included in the general assessment of bovine mastitis. Dissemination of pre- and post-treatment microbiological analyzes of mastitis maintains its importance.

Keywords: Transmission, Mastitis, Diagnosis, Treatment, Summer mastitis

1. Giriş

Mastitis, Grek alfabesinde meme ve yangı anlamına gelen ‘‘Mastos’’ ve ‘‘İtis’’ sözcüklerinden köken almaktadır. Meme bezi parankiminin yangısı olarak tanımlanan mastitisin, sütteki fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik ve glandüler dokudaki patolojik değişiklikler ile karakterize bir

hastalık olduğu bilinmektedir (1). Ödem, ağrı, ısı artışı ve fibröz doku oluşuma bağlı sertleşme gibi klinik belirtiler, mastitisli meme bezlerinde görülen en önemli değişiklikler olarak karşımıza çıkmaktadır (2). Genellikle çiftlik ortamında bulunan çeşitli patojenlerin meme kanalına istilası sonucu meydana gelmektedir (3). Sığırlardaki mastitisin yaş,

✉: birsen.kadioglu@hotmail.com

*Bu çalışma 7. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi'nde sözlü (3-4 Eylül 2021) özet bildiri olarak sunulmuştur.

laktasyon aşaması, kuruya çıkarma yöntemindeki aşamalar, genel sağlık durumuna bağlı iç faktörler ve meme hijyeni, altlık malzemesi, sağım makinesi, yönetim, iklim, coğrafi bölge gibi dış faktörler ile ilişkili olduğu bilinmektedir (4). Yapılan çalışmalar mastitise neden olan patojenlerin ülkeler, bölgeler ve çiftlikler arasındaki dağılımında ciddi farklılıklar olduğunu göstermektedir. Oluşan bu varyasyonların çiftlik yönetimi uygulamaları ve bölgesel çevresel faktörlerden ileri geldiği belirtilmektedir (5). Meme başı kanalı düz kaslı sfinkterden oluşmaktadır. Bu sayede meme başı kanalı, meme kanalını kapalı tutan, sütün akmasını ve bakterilerin memeye girmesini engelleyen fiziksel bir engel olabilmektedir. Tamamen veya kısmen keratin ile kaplı olan meme başı kanalındaki epitel hücreler tarafından üretilen keratinin, mekanik bir bariyer oluşturduğu, içerdiği lipid ve proteinler sayesinde ise bakteriyostatik etkiyi gerçekleştirdiği bilinmektedir (3). Giderek daha önemli hale gelen bu sağlık sorununun nedeni olarak mastitisin önlenmesinde ve tedavisinde kullanılan gereksiz antimikrobiyal ilaç kullanımı görülmektedir. Mastitis nedenli ekonomik kayıplar, veterinerlik hizmeti, teşhis ve tedavi için kullanılan testler ve ilaçlar, mastitisli memeden sağılan sütün atılması ile ortaya çıkan doğrudan maliyetleri içermektedir (6). Sığır mastitisi, süt üretimi üzerindeki etkileri, süt endüstrisi için tedavi masrafları gibi ekonomik kayıplara yol açması ve patojenik veya antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaları insanlara bulaştırma potansiyeli nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olmaktadır (4). Mastitis, kan bileşenlerinden olan serum proteinlerinin, enzimlerin ve tuzların süte sızması nedeniyle sütte hem fiziksel hem de kimyasal değişikliklere yol açabilmektedir (7). Böylelikle, çeşitli patojenlerin neden olduğu mastitis, süt üretimi kaybına neden olabilmektedir. Süt üretimindeki azalma boyutunun, patojene, laktasyon sırasında mastitisin oluşum zamanına ve mastitis tipine (klinik ve subklinik) bağlı olduğu bildirilmektedir (6). İnfekte meme lobundaki süt üretiminin %30 azalması, ineğin laktasyonunda %15'lik azalmaya neden olmaktadır (8). Mastitisin olumsuz etkilerinin önlenmesinde proflaktik yaklaşımın önemi büyüktür. Mastitisin etiyojisine göre etkin, ekonomik ve güvenli proflaktik tedbirlerin alınması gerekmektedir (6).

2. Etiyoloji

Bakteriler, mantarlar, mayalar ve algler dahil olmak üzere yaklaşık 140 mikroorganizma türünün mastitise neden olduğu bilinmektedir (9). Mastitise neden olan başlıca mikroorganizmalar arasında hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler bulunmaktadır. *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Granulicatella elegans*, *Arcanobacterium pyogenes* ve *Bacillus cereus* Gram pozitif, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus* spp., *Aeromonas hydrophila* ve *Pasteurella multocida* ise Gram

negatif bakteriyel mastitislere neden olabilmektedir (8). Mastitise neden olan bakteriler kendi içerisinde, süt bileşiminde önemli değişiklikler meydana getirmesi ve somatik hücre sayısını (SHS) artırma derecesine göre majör ve minör patojenler olarak sınıflandırılmaktadır. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, koliformlar, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Actinomyces pyogenes* ve *Serratia* spp. majör patojenler olarak koagülaz negatif stafilokoklar ve *Corynebacterium bovis* ise minör patojenler olarak kabul edilmektedir (5). Mikotik etkenler arasında ise *Aspergillus fumigatus*, *A. nidulans*, *Candida* spp., *Pichia* spp. ve *Trichosporon* spp. gösterilmektedir (10). Bu etkenlerin yanı sıra *Mycoplasma* spp., *Klebsiella* spp. ve *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin sığır mastitislerinde etkili olduğu bildirilmektedir. Patojen prevalanslarının araştırıldığı bir çalışmada tespit edilen *Staphylococcus hyicus*, *Mycoplasma bovis*, *Streptococcus uberis*, *Pseudomonas aureginosa* ve *Listeria monocytogenes* etkenleri arasında *S. hyicus*'un en yaygın *L. monocytogenes* 'in ise en az prevalansa sahip olduğu belirtilmektedir (11). Ayrıca, Streptokok türlerinden *S. agalactiae* 'nın yanında *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus zooepidemicus* 'a rastlanılmaktadır. *Brucella abortus*, *Leptospira pomona* ve *Pasteurella multocida* ise diğer mastitis etkenleri olarak görülebilmektedir (12). Dünyada süt sığırları ve manda sütünde bulunan başlıca mastitis patojenlerinin görülme sıklığına göre sırasıyla *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* ve *Streptococcus* spp. olduğu bildirilmektedir. Bu bakteri türleri arasında ise *S. aureus* (%25), koagülaz negatif *Staphylococcus* spp. (%20), *Escherichia coli* (%11), *S. agalactiae* (%9) ve *S. uberis* (%9) oranlarında belirlenmektedir (13). Akut mastitisli meme loblarından ise *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella* spp., *Enterococcus faecium*, *Lactococcus gravieae*, *Enterobacter cloaca* ve *Aerococcus viridans* 'ın izole edildiği bilinmektedir (14).

3. Epidemiyoloji

Meme ucunun fiziksel olarak yaralanması, meme ucu sinusunu kaplayan keratin veya mukoza zarındaki hasar nedeniyle memeyi bakteri istilasına, kolonizasyona ve enfeksiyona karşı daha savunmasız hale getirmektedir (2). Mastitis, patojen, konak ve hayvanın yaşadığı çevre olmak üzere üç biyolojik sistemin etkileşimi sonucu oluşmaktadır. Patojen faktörü; meme kanalını kolonize etme yeteneğini, meme epiteline yapışma ve süt akışı ile dışarı çıkmama yeteneğini, konak faktörü; ırkı, meme bezinin fizyolojik durumunu, meme başı kanalının anatomisini, sfinkter tonusunu ve meme başı lezyonunun varlığını, çevresel faktör ise sağım uygulamasını, barınak yapısını ve altlık düzenini içermektedir (15). Epidemiyolojilerine göre, mastitis patojenleri bulaşıcı ve çevresel olarak ikiye ayrılmaktadır.

Bulaşıcı patojenlerin birincil rezervuarının enfekte bir meme olduğu ve kontamine çevrenin ise çevresel mastitis patojenlerinin birincil rezervuarı olduğu bilinmektedir (16). Son zamanlarda ise mastitiste etkene bağlı yapılan bu sınıflandırma bulaşıcı, çevresel ve yaz mastitisi olarak da yapılmaktadır (15). Epidemiyolojik çalışmalar, mastitisli sütte tespit edilen *S. aureus* ajanlarının bir grup virülans faktörü ürettiğini ve enfeksiyonun şiddeti ile *S. aureus* tarafından üretilen virülans faktörleri arasında bir ilişki olduğuna inanılmaktadır (17). Epidemiyolojik açıdan ise sığır mastitisinin etiyojisinde yer alan mikroorganizmaların tanımlanması, rezervuarların ve enfeksiyon kaynaklarının belirlenmesi ve uygun hijyenik tedbirlerin alınmasına dikkat edilmesi zorunlu görülmektedir. Ayrıca, dirençli bakterilerin doğru teşhisi, uygun tedavisi ve genel popülasyon için risklerinin belirlenmesinin kritik öneme sahip olduğu bilinmektedir (18). Genetik analiz, genetik çeşitliliğe dayalı mastitis ile ilişkili mikroorganizmaların epidemiyolojisine yardımcı olacak önemli kanıtlar sunabileceği bilinmektedir (19). Moleküler genotipleme ile mastitisin yayılma modellerinin anlaşılması ve epidemiyolojik çalışmaların bu yönde katkıda bulunması beklenilmektedir. Bunun yanı sıra mastitise neden olan klonal yapıya sahip suşların tespiti açısından bu yöntem önemini korumaktadır (20). Moleküler epidemiyolojik çalışmalar, patojenlerin konak adaptasyonu mekanizmalarının anlaşılmasının yanı sıra kaynak, bulaşma yolları ve hastalığın nedeni ile prognozunu anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır (21). Ayrıca bu çalışmalar arasında patojenlerin tespiti için ribotipleme, polimorfik DNA'nın rastgele amplifikasyonu (RAPD), darbeleri alan jel elektroforezi (PFGE), çoklu odak dizisi tiplemesi (MLST), spa tiplemesi ve çoklu lokus değişken sayı tandem tekrar analiz yöntemi (MLVA) dahil olmak üzere çeşitli tipleme yöntemleri kullanılmaktadır (22). Sığır mastitisine neden olan etkenlerin moleküler epidemiyolojisi ve karakterizasyonu, mastitisin kontrolü ve klinik tedavisi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, kapsüler serotipleme, sekans analizleri ve antimikrobiyal direnç testleri mastitis kaynaklı etken izolatlarının moleküler epidemiyolojisinde önemini korumaktadır (23). Yapılan genetik analizler ise mastitise neden olabilen patojen kapsülünün, bakterinin bağışıklık sisteminden kaçmasını ve konakçıyı istila etmesini sağlayan ilk bakteriyel virülans faktörü olduğunu göstermektedir (24).

4. Klinik mastitis

Klinik mastitis meme, meme başı ve sütte gözle görülür belirtilere yol açabilmektedir. Şiddetli olmayan klinik mastitislerde sütte pıhtılaşma, memede ısı artışı, ödem, anormal sekresyon ve sütün renginde değişiklikler görülürken şiddetli klinik mastitislerde ise sistemik ateş ve iştahsızlık belirtileri görülmektedir (Tablo 1) (1). Klinik mastitis semptomların şiddetine bağlı olarak perakut, akut ve

subakut mastitis olarak kategorize edilebilmektedir. İnfeksiyon oluşumunda katkıda bulunan çeşitli faktörler arasında hastalığa neden olan mikrobiyal ajan, hayvanın yaşı, immünolojik sağlığı ve laktasyon evresi bulunmaktadır (2). Düvelerdeki klinik mastitis ise yaz mastitis sendromu olarak adlandırılmaktadır. Yaz mastitis sendromu ile deri mastitisi eş anlamlı olarak kullanılmaktadır (17). Akut mastitis, belirgin bir sistemik reaksiyon olmaksızın şiddetli meme iltihabı ile subakut mastitis ise sütte kalıcı anormallik, pullu görünüm ile birlikte hafif meme enfeksiyonu ve palpasyonda ağrı ile bilinmektedir. Ayrıca, kronik mastitiste meme bezinde sertleşme, sistemik reaksiyon olmaksızın atrofi ve sütün irinli, pullu, pıhtılı veya sulu yapıya dönüşmesi, bu tip mastitisin en tipik özellikleri olarak kabul edilmektedir (8). Klinik mastitis insidansının çeşitli ülkeler baz alınarak yapılan araştırmalarda 17-48 vaka/100 inek (yaklaşık %30) arasında değiştiği kabul edilmektedir (4). Klinik seyirlerine göre ise mastitisler görülme oranları ile birlikte klinik (%5-10) ve subklinik (%90-95) olarak sınıflandırılmaktadır (14). Klinik mastitis tanısı, enfeksiyöz ajanın tanımlanmasıyla ve klinik gözlemlere dayanmaktadır. Subklinik form ise genellikle en yaygın olan ve üretim kayıplarının yaklaşık %70'inden sorumlu ve süt salgısını %45 oranında azaltan mastitis olarak bilinmektedir (5). Klinik mastitis tanısının nispeten kolay olmasının nedeni hayvanda genel sağlık bozukluğu ile birlikte meme yapısındaki bir dizi görünür klinik belirtiyeye dayanmaktadır. Klinik mastitisli ineklerde, parankimatöz veya nezle enfeksiyonu şeklinde mastitis belirtileri gösterdiği, subklinik mastitisli ineklerde ise görünür herhangi bir enfeksiyon belirtisinin olmadığı ancak mastitis varlığının rutin süt kontrollerinde SHS artışı ile ortaya çıktığı bilinmektedir (25). Bu yüzden, klinik mastitis doğrudan klinik belirtiler ve rutin fizik muayene ile subklinik vakalar ise etkilenen sığırlardan alınan sütün laboratuvar kültürü ve cow side test olarak CMT ile teşhis edilebilmektedir (12).

Tablo 1: Klinik mastitislerin derecelendirilmesi (26).

Mastitis derecesi	Yaptığı değişiklikler
1. derece	Sadece sütte Memede orta derecede ödem ve ağrı
2. derece	Sütün görünümünde değişim
3. derece	Sistemik değişiklikler Meme ödemi ve ağrılı Sütün görünümünde değişim

5. Subklinik mastitis

Subklinik mastitis, meme ve sütte fiziksel inflamasyon belirtilerinin olmaması olarak tanımlanan en yaygın mastitis şekli olarak bilinmektedir. Klinik mastitislere oranla 15-40 kat daha fazla yaygınlık göstermektedir (1). Subklinik mastitis, meme bezinin yanı sıra sütün normal görünümünde

herhangi bir değişikliğe neden olmamaktadır. SHS'deki artış; subklinik mastitisin birincil göstergelerden biridir. Subklinik mastitisin diğer göstergeleri arasında ise sütte bakteri popülasyonunun artması, süt üretiminin azalması, sütün bileşimi ve kalitesindeki değişiklikler yer almaktadır (2). Süt ineklerinde subklinik mastitisin yaşa göre prevalansı göz önüne alındığında yaklaşık olarak vakaların %53'ünün 3-5 yaş, %28'inin 5-8 yaş ve %19'unun ise 8 yaş ve üstü hayvanlarda görülebildiği bildirilmektedir (27). Sütte 200.000 hücre/ml SHS eşiği, (>200.000 hücre/ml) subklinik mastitisli bir memedeki sütün tespiti için kullanılmaktadır. Bu değer optimum eşik seviyesi olarak kabul edilmektedir (28). Subklinik mastitisin daha yaygın görülmesi, memede veya sütte gözlemlenebilir klinik belirtiler veya anormallikler olmaksızın süt üretiminin azalmalara neden olabilmesi bu hastalığın teşhisini zorlaştırmaktadır. Ayrıca, subklinik mastitis sürüde daha uzun süre kalarak ve klinik mastitise göre süt verim açısından daha yüksek kayıplara neden olmaktadır (9). Subklinik mastitiste, sütteki SHS'deki artışın yanı sıra plazma proteinlerin ve intrasellüler bileşiklerin süte geçmesi, iyon konsantrasyonundaki farklılaşma ve bez epitellerinde sentez kapasitesinin azalması görülebilmektedir (28). Subklinik mastitisin tanısı, sahada en yaygın olarak kullanılan ve uygulanabilirliği en kolay test olan Kaliforniya Mastitis Testi (CMT), SHS veya bakteriyolojik kültür sonuçlarına dayanmaktadır. *E. coli*, *S. aureus*, *S. dysgalactia*, *S. uberis*, *C. bovis* ve Koagülaz negatif stafilkokların subklinik mastitisli memelerden izole edilen ve SHS üzerinde etki gösterebilen mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir (29). Sütte artan SHS ile karakterize asemptomatik bir hastalık olmasından dolayı ise CMT'nin yanında Whiteside testi ve elektriksel iletkenlik testi gibi özel testler kullanılarak da teşhis edilebilmektedir (Tablo 2) (7).

Tablo 2: Sağlıklı ve subklinik mastitisli hayvanların süt profilleri (27).

Alınan örneklerden yapılan testler	Sağlıklı hayvanlar	Subklinik mastitisli hayvanlar
pH	6.62±0.06	7.55±0.04
Elektriksel iletkenlik	363.33±15.20	311.67±17.40
SHS (105 hücre/ml)	1.49±0.11	19.78±4.99
CMT	Negatif	Pozitif

6. Mastitislerin teşhisi

Karmaşık oluşum mekanizmalarına sahip olan bu enfeksiyonu teşhis edebilme potansiyeline sahip yeni teknolojiler geliştirilmiştir. Genomik veya proteomiklere dayanan gelişmiş teşhis araçları bu yönde kullanılabilir. Bununla birlikte, enfeksiyonun tedavi

maliyetine, işgücüne, azalmış süt üretimine, atılan süt miktarlarına ve veteriner hekimlik hizmetlerine bağlı finansal kayıplar nedeniyle erken teşhis önemi korumaktadır (2). Klinik teşhisi için öncelikle meme muayenesi, palpasyon ve deneme sağımı yapılırken, sütün muayenesinde sağılan sütün organoleptik değerlendirmesi de birlikte yapılmaktadır. Sütün muayenesinde mastitis şüpheli ineklerden alınan süt örneklerinin steril test tüplerinde tutulması ve süttten örnek alınmadan önce meme başlarının dezenfekte edilmesi gerekmektedir (30). Klinik teşhiste mastitisten etkilenen memede kızarıklık, sıcaklık artışı, ödem ve dokunmada ağrı gibi bulgular önemliyken sütün muayenesinde ise sütteki pıhtılar, sütün renginde ve kıvamındaki değişiklikler önemli görülmektedir (31). Sütün memeden çıkış şekli ve miktarı ile meme başı deliğinin, doku kalınlaşması açısından meme başının ve memedeki sütün boşaltılarak meme loblarının palpasyonu, meme başı ve derisinin görünümü, meme ve meme başlarının büyüklükleri, birbirlerine oranları, memenin şekli, lezyonları, meme lobları arasındaki simetri, hastalığın klinik teşhisi açısından değerlendirilmektedir. Meme başlarındaki yaralanmalarında meme başı kanalına ulaşip ulaşmadığının teşhisi ise klinik muayene ile yapılmaktadır (26). Süt muayenesi ile birlikte mastitis şüpheli süt örnekleri için yapılan mikrobiyolojik muayenenin sonuçları hayvanın ırkı, doğum ve buzağılama tarihleri ve süt kayıt tarihleri ile birlikte kayıt altına alınması mastitisin erken dönemdeki teşhisini amaçlamaktadır (6). Somatik hücreler temel olarak makrofajlar, lenfositler, eritrositler ve epitel hücrelerinden oluşmaktadır ve her hücre tipinin oranı meme bezindeki enfeksiyon durumuna göre değişmektedir (10). Sütteki mililitre başına hücre sayısı açısından sığırlarda normal SHS'nin 100.000 hücre/ml'den az olması ve patojenlerle enfekte olmuş sığırlarda bu sayının 250.000'den fazla olması beklenilmektedir (12). Mastitis, sütte peynir altı suyu proteinleri, serum albümini, immünoglobulin, klorür, sodyum, pH ve serbest yağ asitlerinde artışa neden olmaktadır (16). Sütün pH testi ise özellikle subklinik mastitiste yardımcı tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Sağlıklı hayvanlardan alınan süt örneklerinde sütün pH'sı ortalama 6,62 iken subklinik mastitisli hayvanlarda bu değer ortalama 7,55 olarak bulunabilmektedir (27).

6.1. Kaliforniya mastitis testi (CMT)

SHS'nin ve somatik hücre skoru olarak da bilinen CMT'nin subklinik mastitislerin tanısında kullanılan en yaygın test olduğu bilinmektedir (5). Mastitisli memede yaygın fibrozis nedeniyle sertleşme ve etkilenen bölgelerin nodüler ve atrofik oluşumlar gözlemlenebilmektedir. Mastitin bu kronik evresi CMT ile tespit edilmektedir (12). CMT'nin sağım zamanında yapılabilen, anında sonuç verebilen, ekonomik, kolay uygulanabilir, subklinik mastitislerin taranmasında ve bakteriyolojik kültür için numune seçiminde belirleyici olabilecek bir test olduğu bilinmektedir (14). CMT bir ve

birden fazla meme lobundaki veya toplu süt örneklerindeki sütün test edilmesinde kullanılmaktadır. CMT'de güvenilir sonuçlar elde etmek açısından taze, soğutulmamış süt 12 saate kadar, soğutulmuş süt ise 36 saate kadar test edilebilmektedir. Sütteki hücre sayısının yüksek veya düşük olmasına bağlı olarak CMT, her üç ayda bir memedeki enfeksiyon düzeyinin değerlendirilmesinde yardımcı olabilmektedir (15). CMT, memelerdeki fiziksel muayeneyi takiben özellikle sürüde bulunabilen subklinik mastitislerin taranmasında kullanılmaktadır. Bu testte aseptik şartlarda alınan CMT pozitif olarak tespit edilen süt örneklerinden bakteriyolojik açıdan izolasyon ve identifikasyon işlemleri uygulanmaktadır (9). CMT solüsyonu deterjan ve süt pH'sını tespit etmeye yarayan Brom Krezol Purple'dan oluşmaktadır. CMT prensibi somatik hücre DNA'sının reaktifteki deterjanla reaksiyonu sonucu jel formasyonu oluşmasına dayanmaktadır (14). CMT ayırıcıları ile süt yeteri miktarda karıştırıldığında, CMT ayırıcı lökositlerin yağdan oluşan hücre duvarını parçalamaktadır. Daha sonra, ayırıcı hücre çekirdeğinde bulunan DNA ile reaksiyona girerek jelatinöz bir yapı oluşturmaktadır. Sütte bulunan lökosit sayısı ne kadar fazla ise oluşan jelin kıvamı o derece artmaktadır (32). CMT mastitisten etkilenen sığırların sütündeki artan lökosit sayısının ve alkalinitenin tespitinde kullanılmaktadır. CMT'de süt örnekleri bölmelere ayrılmış dört bölmeli plastik bir küreğe CMT'ye spesifik bir kap alınmaktadır. Test reaktifleri bölmelere eklendikten sonra bölmelere hafifçe döndürülmektedir. Pozitif örnekler, yüksek miktarda bazik tuzun yani alkalinitenin varlığını gösteren yeşilimsi mavi rengin görülmesiyle tespit edilmektedir (12). Alınan örneklerde çökelti oluşturma eğilimi olmadan sıvı halde kalanlar negatif, belirgin bir çökeltinin olduğu ancak jel görünümünün olmadığı karışımlar zayıf pozitif, belli miktarda jel oluşumunun olduğu karışımlar belirgin pozitif, bölmenin tabanına yapışma eğilimi belirgin ve döndürülme esnasında merkezi tepe noktası görümü olan karışımlar ise güçlü pozitif olarak değerlendirilmektedir (7). Meme loblarından en az biri CMT yönünden pozitif olduğunda inekler pozitif olarak kabul edilmekte ve sürüdeki en az bir inek CMT pozitif olarak kabul edilmektedir. CMT, subklinik mastitisin teşhisinde uygulanan diğer testlerden daha verimli ve güvenilir sonuçlar verebilmesinden dolayı birçok araştırmada ilk tanı seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır (16).

6.2. Mikrobiyolojik muayene

Mastitisin mikrobiyolojik analizinde özellikle CMT pozitif çıkan meme loblarından alınan süt örnekleri kullanılmaktadır (7). Süt örneklerinin toplanmasında meme uçları sağım öncesi iyot bazlı dezenfektanlara daldırıldıktan sonra bırakılmaktadır. Süt örneklerinin toplanmasından önce ise meme uçlarından birkaç kez süt çıkışı yapılmaktadır (4). Süt örneklerinin sabah sağımından önce aseptik koşullarda

alınması önerilmektedir. Alınan örneklerden proteomik analiz yapılacak ise sütteki hücrelerin ve yağ globüllerinin uzaklaştırılması için 4 0C'de 30 dakika 13000 devirde santrifüj uygulanmaktadır (25). Bakteriyolojik kültürleme işlemi meme lobu, inek veya sürü düzeyinde uygulanmaktadır. Çoğunlukla mastitisin bulaşıcılığı rezervuarın erken dönemdeki teşhisi ile patojenlerin bulaşmasının önlenmesi yoluyla belirlenebilmektedir. (16).

6.2.1. İzolasyon ve identifikasyon

Mastit teşhisinin en kesin yolunun, sütte bulunabilecek herhangi bir patojenik mikroorganizmanın doğrudan izolasyon ve identifikasyonu olduğu düşünülmektedir. İzolasyon ve identifikasyon, kültürel yöntemlerle ve bir dizi ek belirleyici testlerle mümkün olabilmektedir. Doğru sonuçlar elde etmek için ise kontaminasyona sebebiyet verecek koşullardan uzak durulması önerilmektedir (15). Süt numuneleri, izolasyon ve identifikasyon amacıyla bakteriyolojik kültür ve biyokimyasal testlere tabii tutulduktan sonra mastitise neden olan mikroorganizmalar açısından değerlendirilmektedir (17). Aseptik koşullarda alınan süt örnekleri %10 koyun kanlı agar, Mannitol tuzlu agar, Baird-Parker agar, Edward's besiyeri ve MacConkey's agar gibi besiyerlerine ekilerek ortalama 37°C'de 24-48 saat boyunca inkübe edilmektedir (7). Ayrıca, ilk zenginleştirme için kullanılabilen %5 koyun kanı ile takviye edilmiş beyin kalp infüzyon agarı ve MacConkey agar gibi besiyerlerinden sonra katalaz, nitrat redüksiyonu, oksidaz, jelatin ve eskülin hidroliz testleri uygulanmaktadır (3). Besiyerlerinden sonra alınan örnekler Gram boyama ile boyandıktan sonra identifikasyon amaçlı olarak biyokimyasal testlere tabii tutulmaktadır. Bu testlerden olan katalaz testi ise mastitiste yaygın olarak görülebilen stafilokok genusunu streptokok ve enterokok genuslarından ayırt edilmesinde kullanılsa da biyokimyasal testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yüzden, katalaz negatif örnekler için Christie, Atkins ve Much-Peterson (CAMP) testi ve eskülin, inülin, mannitol, salisin, sorbitol ve trealoz testleri yapılmaktadır (5). Stafilokok genusunun izolasyon ve identifikasyonu besin agar plakları üzerinde yetiştirilen saf izolatlardan yapılabilmektedir. Gram boyama ve katalaz testleri uygulanan stafilokoklara ait olan kolonilerde gaz kabarcıklarının oluşumu gözlenebilmektedir. Stafilokoklar ait olan bu koloniler, Mannitol tuz besiyerinde kültürlendikten sonra besiyerindeki renk değişiklikleri incelenmektedir. Kolonilerde gerçekleşen kırmızıdan sarıya geçişli renk oluşumunun tuza toleranslı stafilokokların varlığından ileri geldiği bildirilmektedir (33). Ayrıca, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tüp koagülaz testleri stafilokok genusu ile streptokok genusunun ayırt edilmesine yardımcı olmaktadır (17). Besiyerlerinde oluşan kolonilerin kültürel ve morfolojik özellikleri araştırıldığında aglütinasyon ve hemolitik aktivite testleri kolonilerin kültürel, Gram ve

Romanowsky-Giemsa boyama teknikleri ise morfolojik özellikleri hakkında bilgi verebilmektedir (30).

6.2.2. Antibiyotik duyarlılığı

Mastitis patojenlerinin tespiti ve antimikrobiyal duyarlılıkları, uygun tedavi rejimi seçilirken önemini korumaktadır. Antibiyogram çalışmaları, tüketicilere kaliteli süt sağlamak ve insanlar için potansiyel sağlık riski olabilen antibiyotik direncinin önlenmesinde kullanılmaktadır (16). Antimikrobiyal duyarlılık testleri, insan ve veteriner tıbbında en yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek derecede duyarlılık göstermektedir. Muller Hinton agar üzerinde uygulanan disk difüzyon yönteminin ise fenotipik antimikrobiyal duyarlılık testlerinden olduğu bilinmektedir (7). Antimikrobiyal dirençli bakterilerin erken bir aşamada identifiye edilmesi ile etkenlerin çiftlik hayvanlarından insanlara bulaşması engellenmektedir. Antibiyotik tedavisi uygulanan hayvanlardan elde edilen süt, insanlarda antimikrobiyal direnç kaynağı olabilmektedir. Bu yüzden antibiyotik duyarlılık testleri sütün güvenliğinin ve kalitesinin sağlanması açısından aşırı antibiyotik kullanımının kontrol edilmesinde etkin rol oynamaktadır (2). Antimikrobiyal ajanların aşırı kullanımı, tedavinin eksik bırakılması, yanlış ilaç seçimi ve antibiyotik direnç genlerinin bakteriler arasında aktarılması antibiyotik direncinin artmasının başlıca nedenleri arasında sayılmaktadır (3). Antimikrobiyallere karşı duyarlılık, hayvan türleri arasındaki çeşitliliğe, iklime ve coğrafi bölgelere, hastalık evresine ve önceki antimikrobiyal ajan kullanıma göre değişkenlik gösterebilmektedir (34). Mastitis patojenlerinin antibiyogram profili farklı çalışmalarda enrofloksasin, norfloksasin, siprofloksasin ve gentamisin mastitise neden olan bakterilere karşı en etkili antimikrobiyaller olduğunu göstermektedir (16). Rudenko ve ark. yaptıkları çalışmada mastitisli meme salgılarından izole edilen bakteri ve mantar türlerinin benzilpenisilin, metisilin, amoksisilin, kobaktan, sefalekssin, gentamisin, kanamisin, streptomisin, tetrasiklin, doksisisiklin, linkomisin, enrofloksasin, norfloksasin, ofloksasin, floksasin, ampisilin ve itrakonazole karşı etkinliklerini araştırmışlardır (Tablo3) (30). Antimikrobiyal tedavi süresince ve sonrasında sütte kalıntı oluşumuna dikkat edilmektedir. Uygun antimikrobiyal ajanın seçilmesinde, düşük minimum inhibitör yoğunlaşma (MIC) değerine sahip olmasına dikkat edilmektedir. Sistemik uygulanan ajanların meme bezindeki fagositozu zayıflatmasından dolayı tedavide kullanılacak ajanların antibakteriyel etkisinin bakteriyostatikten ziyade bakterisidal olması gerekmektedir (8). Disk difüzyon, kuyu difüzyonu ve broth veya agar seyreltme testleri antimikrobiyal duyarlılıkta kullanılmaktadır. Agar disk difüzyon yönteminin ise klinik laboratuvarında sığır mastitis izolatları için yaygın olarak uygulanan bir antimikrobiyal duyarlılık testi olduğu bilinmektedir (35).

Tablo 3: Mastitiste izole edilen mikroorganizmaların antibiyotik ve antimikotiklere karşı duyarlılığı (30).

Antibakteriyel ve antimikotik ilaçlar	İzole edilen mikroorganizmalardaki antibiyotik ve antimikotik duyarlılık göstergeleri		
	Duyarlı (%)	Orta duyarlı (%)	Dirençli (%)
Benzilpenisilin	62,8	8,6	28,6
Metisilin	44,4	10,3	45,3
Amoksisilin	78,5	5,1	16,4
Kobaktan	92,2	2,5	5,3
Sefaleks	95,8	1,7	2,5
Gentamisin	64,5	19,1	16,4
Kanamisin	58,1	22,5	19,4
Streptomisin	65,1	9,1	25,8
Tetrasiklin	64,4	14,1	21,5
Doksisisilin	64,7	16,6	18,7
Linkomisin	63,1	17,3	19,6
Enrofloksasin	98,1	1,3	0,6
Norfloksasin	92,6	1,7	5,7
Ofloksasin	90,9	2,4	6,7
Amfoterisin B	81,8	9,1	9,1
Flukonazol	90,9	9,1	-
İtrakonazol	100,0	-	-

7. Yaz mastitisi

Yaz mastitisi, genellikle yaz aylarında ortaya çıkan, kuru dönemdeki ineklerin ve düvelerin hastalığı olarak bilinmektedir. Aynı zamanda genç düvelerin rudimenter meme uçlarında ortaya çıkmaktadır. Süt sığırlarında, yaz mastitisi genellikle kurak bahar dönemi olan buzağuların yetiştirme döneminde rastlanılmaktadır (36). Yaz mastitisinde özellikle gebeliğin son 6 haftasındaki gebe ineklerin, düvelere göre daha duyarlı olduğu bildirilmektedir (37). Üçüncü tip mastitis olan yaz mastitisinin kuru dönemdeki ineklerin ve düvelerin memeye kapsamlı ve ağırlı hasar verebilen akut bir hastalık olduğu bilinmektedir. İnfekte olan bölgenin kalıcı olarak hasar görmesi durumu hayvanın itlafına neden olabilmektedir (15). Bu hastalığa tipik olarak temmuz ayından eylül ayına kadar yüksek rakımlı olmayan meralarda rastlanılmaktadır. Yaz mastitisi, kötü prognoz taşıyan ciddi bir hastalık olarak bilinmektedir. Hastalığın meme başlarını kullanılamaz hale getirmesi ciddi verim kaybına yol açmaktadır (38). Ayrıca yaz mastitisi, mastitis nedenleri arasında yer alan bulaşıcı ve çevresel tiplerinin yanında, meme başı derisi fırsatçı patojenlerine bağlı mastitis olarak tanımlanmaktadır (39). Yaz mastitisi, vektör bazlı patojeniteye sahip olan mastitis olarak bilinmektedir. Bu hastalık kuru dönemde tedavi edilemez ise laktasyon döneminde klinik mastitis olarak kendini gösterebilmektedir (15).

7.1. Etiyoloji

Yaz mastitisi koyun baş sineği olarak bilinen *Hydrotaea irritans* tarafından yayılmaktadır. Bu vektör yaz mastitisinde etkili olan *Trueperella pyogenes*, *Peptococcus indolicus*, *Streptococcus dysgalactae* gibi etkenleri taşıyabilmektedir (40). Çalılık ve ağaçlı bölgelerde yaşayabilen bu sinekler nemli ve az rüzgarlı hava şartlarında daha aktif hareket edebilmektedir. Bu nedenle ıslah edilmemiş ormanlık alanlarda vaka artışı gözlenmektedir (36). Baş sinekleri, yaz mastitisine neden olan bakterileri birkaç gün boyunca taşıyabilmektedir. İneklerin daha çok karın ve meme çevresine yerleşmektedirler (38). Yaz mastitisinde görülen *T. pyogenes* genellikle travma veya diğer mikroorganizmaların oluşturduğu mukoza hasarlarını takiben etki edebilmektedir. *T. pyogenes*, yaz mastitisine ek olarak sığırlarda abortus, pnömoni, artrit ve endometrite neden olmaktadır (41). *T. pyogenes* (eski adıyla *Arcanobacterium pyogenes*) ineklerde piyojenik lezyonlar oluşturması ile yaz mastitisinin başlıca nedenleri arasında görülmektedir. Biyofilm oluşturma yeteneği sayesinde ise *T. pyogenes* 'in bağışıklık sistemi tarafından tanınmaması antimikrobiyal tedavi ile yok edilmesini zorlaştırmaktadır (42). *T. pyogenes* geniş bir coğrafi alanda etkili olabilmektedir. Fomitler ve sineklerin dışında mekanik vektörlerce yayılabilmekte ve genellikle evcil hayvanların müköz membranlarında yaşayabilmektedir (37). Ayrıca, anaerobik özellikteki etkenler *T. pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides* spp. ve *Porphyromonas levii* yaz mastitisinde sinerjik etki gösterebilmektedir (38). Bu bakterilerin patojenitesinin hemolitik ekzotoksin, nöraminidaz, proteaz ve dermonekrotik ekzotoksin gibi bazı virülans faktörlerine sahip olduğu bilinmektedir (8). Yaz mastitisinde *T. pyogenes* ile *P. indolicus* birlikte enfeksiyon oluşturabilmektedir. Yağışlı havalarda yaygın olarak bulunan *Hydrotaea irritans*, taşıdığı bakteriler ile hayvanda sistemik bir reaksiyon ve meme başı fonksiyon kaybına neden olmaktadır. İnfekte meme başlarındaki kötü kokulu salgıların varlığı anaerobik bakteriyel faaliyetlerden kaynaklanmaktadır (39). Sağım sırasında, meme başı açıklığının yakınında bulunan bakteriler meme başı kanalına erişebilmektedir. Bu durum meme başı sinüsünü kaplayan keratide ve mukoza zarlarında hasara neden olabilmektedir. Böylelikle, hastalık sağımdan 1-2 saat sonra meme başı kanalı kısmen açık kalmasından ve bu süre zarfında patojenlerin meme kanalına serbestçe girebilmesinden kaynaklanmaktadır (37). Yaz mastitisinin görülme sıklığı, hijyenik olmayan sağım koşulları ile çamurlu ve sürekli yağmur alan yüksek nemli bölgelerde yapılan yetiştiricilik ile doğru orantılı şekilde artmaktadır (43). Hayvanın yaşı, laktasyon evresi, cinsi ve süt verimi özellikleri hastalığın etiyojisi açısından önem taşımaktadır. İnfekte meme loblarının insidansının yaşla birlikte arttığı bilinmektedir. Hastalığın insidansı ortalama 7 yaşındaki hayvanlarda pik yapmaktadır. Laktasyon evresinin ilk 2 ayında, özellikle

çevresel bulaşma ile ortaya çıkabilmektedir. Düvelerin buzağılama dönemindeki ilk ayda çok daha büyük bir insidans görülmektedir. Yüksek verimli ineklerin ise genellikle mastitis ve meme başı yaralanmasına daha duyarlı oldukları kabul edilmektedir (44).

7.2. Bulaşma

Yaz mastitisinin bulaşmasına, yaz mastitisinin en önemli vektörü olarak kabul edilen baş sineği *Hydrotaea irritans*, kumlu toprakların yaygın olduğu bölgelerde daha aktif formda bulunmaktadır. Etkilenen meme başının deliği etrafında kümelenen çok sayıda sinek, ineklerin etkilenen bölgeyi sık tekmelemesinden dolayı hayvanda önemli ölçüde bölgesel yaralanmalara yol açmaktadır (37). Bulaşmada potansiyel dış enfeksiyon yolları, yaralı meme derisi ile kan yoluyla vücudun diğer bölgelerine yayılan bakterilerden oluşmaktadır. Enfeksiyon olasılığı yüksek olan meme kanalı yoluyla bulaşma, meme uçlarının enfekte olmasından sonra yaygınlaşmaktadır (40). İneklerin, meme uçlarının kolayca zarar görebileceği ve yüksek sinek popülasyonuna maruz kalabileceği çevre koşullarında yaşaması yaz mastitisi açısından bulaşmayı kolaylaştırmaktadır (15). Meme başının hasar görmesi etkenlerin bulaşmasını kolaylaştırmaktadır. Yaz mastitisinde bulaşma daha çok mayıs ile ekim ayları arasında iken en yüksek insidans ağustos ayında görülmektedir. *T. pyogenes* ile *P. indolicus* 'un yaz mastitisinde bulaşma sıklığı değerlendirildiğinde *T. pyogenes* kaynaklı mastitislerin hem laktasyondaki hem de kuru dönemdeki ineklerde yıl boyunca olabileceği, *P. indolicus* 'un ise daha çok yaz aylarındaki yüksek insidansı ile mevsimsellik gösterdiği bildirilmiştir (45).

7.3. Klinik bulgular

İneklerin meme uçlarının kolayca zarar görebileceği ve yüksek sinek popülasyonuna maruz kalabileceği ortamlarda bulunması klinik bulguların ortaya çıkması açısından hazırlayıcı nedenler olarak görülmektedir (15). Anaerob mikroorganizmaların neden olduğu yaz mastitisi, genellikle kuru dönem veya erken laktasyon sırasında sporadik olarak meydana gelmektedir. Vakaların yaklaşık %90'ında meme başlarının sadece dörtte birinin enfekte olduğu bildirilmektedir (41). Yaz mastitisinin ilk belirtilerinde ödemli, ağrılı meme başı ile kötü kokulu sarımsı salgıların olduğu bildirilmiştir. İnfeksiyon ilerledikçe bakteriyel toksinler meme dokusuna geri dönüşümsüz şekilde zarar verebilmektedir. Sistemik hale geldiğinde ise arka ayaklarda ödem, uyuşukluk, sürüden ayrılma, tutukluk, yürüme isteksizliği, otlatma eksikliği ve hatta ölüm görülebilmektedir (40). Kuru dönemdeki ineklerde ve düvelerde yüksek ateş, meme hasarı ve toksemi ile birlikte şiddetli bir mastitis tablosu şekillenmektedir. Hastalığın başlangıcında meme başında sertlik, ağrı, aşırı büyüme ve sıcaklık artışı görülmektedir. Meme başlarından salgılanan

kötü kokulu salgılar daha çok sineğin gelmesine neden olmaktadır (37). Hastalıktan etkilenen ineklerin palpasyonunda meme bezlerindeki belirgin değişiklikler görülebilmektedir. Meme başlarında kendiliğinden boşalan irinli yapılar ve krepitasyon ile sütteki pıhtılı, irinli ve kanlı makroskopik değişiklikler gözlemlenmektedir. Yaz mastitisleri klinik açıdan diğer mastitislerle ayırt edilmesi mümkün olamayacağından dolayı bu vakalar mikrobiyolojik tanı ile analizleri belirlenebilmektedir (43).

7.4. Teşhis

Mastitislerin teşhisinin genel yaklaşımı kalitatif süt muayenesi, strip cup veya plaka testleri, CMT, akış sitometrisi ve kültür yöntemlerini içermektedir (15). Hastalığın önlenmesi, yönetimi veya terapötik yaklaşım için tanının erken, hızlı ve doğru olması gerekmektedir (31). Mastitis, süt hayvanlarında antibiyotik kullanımının önemli bir nedeni olduğundan, erken tanı, hayvanın uygun gıda ve hijyen durumu ile birlikte doğru in vitro antibiyogramın oluşturulması, mastitisin kontrolü ve dirençli bakteri klonlarının diğer duyarlı hayvanlara yayılmasını önlenmesi açısından büyük öneme sahip olduğu unutulmamalıdır (34). Mastitisli ineklerin bulunduğu ortamdaki yoğun sinek popülasyonu, memenin ve süütün fiziksel muayenesi ile süütün kokuşması gibi bulguların yaz mastitisin tanısında yardımcı faktörler arasında yer almaktadır. Beyaz taraf testi için alınan süt örneğinde karıştırılmadan sonra içeriğin kalınlaşması, viskoz hale gelmesi ve içerikte çubukla birlikte gelen bir iplikçik görünümü akut mastitise işaret etmektedir. Bu durum yaz mastitisli vakalar için de geçerli sayılmaktadır (37). Ayrıca, süütün muayenesinde bakteriyolojik kültürün ve SHS'nin yanısıra laktoferrin ile N-acetyl- β -D-glukozaminidaz (NAGaz) enzim aktiviteleri değerlendirilmektedir (45). Mastitislerde olduğu gibi yaz mastitisinde süütün pH'sındaki değişiklikler tanıda yardımcı olmaktadır. Süütün tadında veya süttten elde edilen ürünlerdeki bozulmaların mastitisli sütte bulunan kan, mukus ve enzimatik artıştan kaynaklanabileceği bilinmelidir (40). Mastitin etiyolojik ajanını belirlemek için aseptik olarak toplanan süt örneklerinde ek testlerin yapılması gerekmektedir. İlk olarak bakteriyolojik kültür yapılmaktadır. Daha sonra, mikroorganizmanın morfolojisine veya belirli bir substratı metabolize etme kabiliyetine dayalı olarak tanımlanması açısından çeşitli biyokimyasal testlere başvurulmaktadır (41). Karakterizasyon amaçlı fenotipik testler yapılmaktadır. Bulunan etkenler Gram pozitif, anaerob, difteriform, pleomorfik kokobasil ve asporojenik olarak tanımlanmaktadır. Kanlı agarda 37°C'de 24 saat inkübasyonun ardından hemolitik zonlar ile mikrobiyal büyümede açısından değerlendirilmektedir (43). Yaz mastitisinde yaygın olarak rastlanılan *T. pyogenes*, koloni morfolojisi, Gram boyama, hemolizin üretimi, katalaz testi, indol testi ve glukoz ve manitol fermentasyonu yöntemleri

kullanılarak tanımlanabilmektedir (39). *T. pyogenes*'in bakteriyolojik kültürü %5 koyun kanlı agarda 37°C'de 24 saat anaerobik olarak uygulanmaktadır. Ortaya çıkan kolonilerin aynı zamanda aerobik koşullar altında büyümesinin olup olmadığı kontrol edilmelidir. Daha sonra glikozu fermente eden ve fermente etmeyen Gram negatif basilin tanımlanmasına yönelik identifikasyon yöntemleri uygulanabilmektedir (45). Mastitis için konvansiyonel tanı testleri genellikle daha az özgüllük ve duyarlılığa sahip kalitatif testler olarak bilinmektedir. İleri düzeydeki testler ise nicel, yüksek düzeyde özgüllüğe ve duyarlılığa sahiptir. Fenotiplemenin yanı sıra genotipleme yöntemlerine dayanan ileri moleküler teknikler, mastitise neden olan patojenlerin teşhisi için tür ve alt tür düzeyine kadar hızlı ve spesifik tanımlama yöntemleri sunmaktadır (31).

7.5. Tedavi

Yaz mastitisinde tedavi, hayvanın hayatının varsa gebeliğinin veya sağım açısından meme uçlarının sağlığının korunmasını amaçlamaktadır (37). Tedavi, çoğunlukla hastalıktan etkilenmiş meme uçlarındaki yabancı materyallerinin soyulma yöntemiyle ortamdaki uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Bu işlemin ardından meme içi antibiyotik uygulaması yapılabilmektedir. Bakteriyel toksinlere karşı ise parenteral antibiyotikler uygulanmaktadır (40). Ayrıca, etkenlerin yüksek prevalansı, meme başlarındaki sık kolonizasyonları, hücre içinde etkili olma ve memede yaygın apse oluşması durumları antibiyotik tedavisine direnç oluşturabilmektedir (39). İnfeksiyonun antibakteriyel yöntem ile tedavisinde sütte kalıntı oluşturma riski göz önünde bulundurulmalıdır (8). Tedavi mümkün oldukça etkene özgü yapılmalıdır. Ancak, akut vakalarda sürü verilerine bağlı olarak tedavi başlatılmalıdır. Hızlı ve etkili yapılmış bakteriyolojik tanı en uygun preparatın seçiminde kolaylık sağlayabilmektedir (15). Yoğun irin akıntısı ve yangı reaksiyonları nedeniyle yaz mastitisinde meme içi veya lokal tedavi uygulamaları yeterli olmadığı durumlarda intavenöz tedavi uygulamaları önerilmektedir. Öte yandan ilaç tedavisinin başarısız olduğu vakalarda meme uçlarının kimyasal ablasyonu tercih edilebilmektedir (43). Prokain penisilin, sülfanamidler ve tilosin gibi parenteral uygulanan preparatlar bulunmaktadır. Bununla birlikte meme içi olarak penisilin türevleri ile eritromisin tüpleri uygulanmaktadır. Ağrı, ödem ve ateş gibi bakteriyel toksinlerin sistemik etkilerine karşı koymak için steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar kullanılmaktadır. Kortikosteroidler ise eklem sıvılarını çok daha etkili bir şekilde azaltsalar bile gebe ineklerde kullanılmamaktadır (37).

7.5.1. Kuru dönem tedavisi

Kuru dönem iki aktif laktasyon dönemi arasındaki spesifik dönem olarak bilinmektedir. Bu dönemde meme bezinde hem yapısal hem de işlevsel değişiklikler gerçekleşmektedir.

Kuru dönem tedavisi, kısaca laktasyon sonunda antimikrobiyal tedavi uygulaması olarak tanımlanmaktadır (46). Meme başı dolgu macunu ve hijyenik önlemler eşliğinde meme içine uzun etkili antimikrobiyal ajanların uygulandığı bir tedavi modeli olarak bilinmektedir (40). Kuru dönem tedavisi hem tedavi hem de profilaktik amaç taşımaktadır. Pirlimisin, metisilin, kloksasilin, amoksisilin, novobiosin, penisilin G, dihidro streptomisin, sefalosporin ve eritromisin etken maddeli preparatlar bu dönemde kullanılabilir (42). Laktasyon dönemindeki mastitis vakaları genellikle antibiyotiklerle tedavi edilmesine karşın kuru dönem tedavisinin mastitisin kontrolünde oldukça etkili olduğu bilinmektedir (2). Laktasyon periyotlarının sonunda her meme ucunda uygulanan kuru dönem tedavisi mastitis tiplerine karşı kontrol programı niteliğinde görülmektedir (4). Temiz sağım uygulaması her ne kadar hastalığın önlenmesinde ve kontrolünde etkili görülse bile kronik vakaların önüne geçilmesi açısından kuru dönem tedavisine ihtiyaç duyulmaktadır (12).

7.6. Korunma

Laktasyon dönemindeki klinik vakaların tedavisi, sağım sonrası meme başı dezenfeksiyonu, sağım ekipmanlarının bakımı, kronik infekte hayvanların itlafi, meme sağlığı durumunun izlenmesi ve etkin kuru dönem tedavisi mastitis açısından genel kontrol programları olarak bilinmektedir (41). Yaz mastitisinin bulaşmasında etkili olan *Hydrotaea* irritans sineğinin temmuz ile eylül ayları arasında aktif oldukları bilinmektedir. Bu dönemdeki sinek popülasyonunun azaltılmasına yönelik topikal piretroid grubu insektisitler ile insektisit etkili kulak küpeleri kullanılabilir (37). Sinek kontrol yöntemleri arasında sentetik pretroidlerden deltametrin ile permetrin gibi preparatların dökme veya sprey şeklinde uygulaması yer almaktadır. Bunun yanı sıra otlatma koşullarının iyileştirilmesi, fiziksel bariyer açısından meme ucu için dolgu macunlarının ve mikro gözenekli koruma bantlarının kullanılması, etkilenen hayvanların izolasyonu ile çiftlikteki hijyen koşullarının sağlanması yaz mastitisinden korunmada yardımcı olabilmektedir (39). Sinek popülasyonunun kontrolü ve kuru dönemdeki ineklerin çiftlikteki yüksek riskli alanlardan uzak tutulması gibi kontrol yöntemlerinin başarısız olabilmesi durumuna karşın yaz mastitisi yönünden risk altındaki sürülere bu dönemlerde antibiyotikli kuru dönem tedavisi önerilmektedir (47).

8. Sonuç

Mastitis, süt endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olması ile süt sığırcılığında en maliyetli üretim hastalığı olmasından dolayı önemini korumaktadır. Hastalığın kontrolünde orijinal kaynağın ortadan kaldırılması ve sürü içinde daha fazla yayılması önlenmelidir. Hijyenik olmayan ahır şartları ve sağım uygulamalarının olması, sağım sonrası meme başının dezenfeksiyonunun yapılamaması, düzenli

veteriner hekim denetiminin olmaması ve klinik vakaların teşhis ve tedavisinin zamanında yapılamaması hastalığın potansiyel risk faktörleri arasında yer almaktadır. Ayrıca, ortamdaki sinek popülasyonunun kontrolünün ve kuru dönem tedavisinin yapılması ile sağım sonrası meme ucu koruyucu preparatların kullanılmasının mevsimsel mastitisler içinde yer alan yaz mastitisinin yaygınlaşmasında önleyici uygulamalardan oldukları unutulmamalıdır.

Kaynaklar

1. Mourya A, Shukla PC, Gupta DK, Sharma RK, Nayak A, et al. Prevalence of subclinical mastitis in Cows in and around Jabalpur, Madhya Pradesh. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2020; 8: 40-44.
2. Ashraf A, Imran M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal Health Research Reviews* 2020; 21: 36-49. doi: 10.1017/S1466252319000094.
3. Rezanejad M, Karim S, Momtaz H. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Trueperella pyogenes* strains isolated from bovine mastitis and metritis. *BMC Microbiology* 2019; 19: 305. doi: 10.1186/s12866-019-1630-4.
4. Song X, Huang X, Xu H, Zhang C, Chen S, et al. The prevalence of pathogens causing bovine mastitis and their associated risk factors in 15 large dairy farms in China: An observational study. *Veterinary Microbiology* 2020; 247: 108757. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108757.
5. dos Santos PJ, Ladeira SL, de Lima Gonzalez H, Dors GC, da Silva Nascete P. Bacteria From Bovine Mastitis: Survey And Literature Review. *Congresso Internacional Da Agroindustria. Second International Veterinary Internal Medicine Congress. September, 25-27, 2020; Recife-Brasil.* doi: 10.31692/ICIAGRO.2020.0213.
6. Heikkilä AM, Liski E, Pyörälä S, Taponen S. Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. *Journal of Dairy Science* 2018; 101: 9493-9504. doi: 10.3168/jds.2018-14824.
7. Abed AH, Menshawy AMS, Zeinm MMA, Hossain D, Khalifa E, et al. Subclinical Mastitis in Selected Bovine Dairy Herds in North Upper Egypt: Assessment of Prevalence, Causative Bacterial Pathogens, Antimicrobial Resistance and Virulence-Associated Genes. *Microorganisms* 2021; 9: 1175. doi: 10.3390/microorganisms9061175.
8. Al-Dabbagh SYA, Mahmood EN, Al-Chalaby AYH. Bacterial Bovine Mastitis In Iraq: A Review. *Basrah Journal of Veterinary Research* 2020; 19: 76-102.
9. Mbindyo CM, Gitao GC, Mulei CM. Prevalence, Etiology, and Risk Factors of Mastitis in Dairy Cattle in Embu and Kajiado Counties, Kenya. *Hindawi Veterinary Medicine International* 2020; 1-12. doi: 10.1155/2020/8831172.
10. Motaung TE, Petrovski KR, Petzer IM, Thekisoe O, Tsilo TJ. Importance of bovine mastitis in Africa. *Animal Health Research Reviews* 2017; 18: 59-69. doi:10.1017/S1466252317000032.
11. Choudhary J, Kashyap SK. Detection of mastitis pathogens by multiplex polymerase chain reaction. *The Pharma Innovation Journal* 2021; 10: 79-83.
12. Sarma O, Hussain J. Bovine Mastitis: An Overview. *Vigyan Varta* 2021; 2: 54-59.
13. Krishnamoorthy P, Suresh KP, Jayamma KS, Shome BR, Patil SS, et al. An Understanding of the Global Status of Major Bacterial Pathogens of Milk Concerning Bovine Mastitis: A Systematic Review and Meta-Analysis (Scientometrics). *Pathogens* 2021; 10: 545. doi: 10.3390/pathogens10050545.

14. Aytekin Ö. Laktasyondaki Akut Mastitisli Süt İneklerinde Meme İçi Uygulanan 1.kuşak Sefalosporin ve Proteolitik Enzim Kombinsayonun Tedavideki Etkinliğinin Araştırılması. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniv Sağ Bil Ens, Van 2012; s. 97. (thesis in Turkish with an English abstract).
15. Kibebew K. Bovine Mastitis: A Review of Causes and Epidemiological Point of View. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 2017; 7: 1-14.
16. Argaw A. Review on Epidemiology of Clinical and Subclinical Mastitis on Dairy Cows. *Food Science and Quality Management* 2016; 52: 1-10.
17. Teegegne DT, Mamo G, Waktole H, Messele YE. Molecular characterization of virulence factors in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Ethiopia. *Annals of Microbiology* 2021; 28: 1-15. doi: 10.1186/s13213-021-01639-3.
18. Dorneles EMS, Fonseca MDAM, Abreu J.AP, Lage AP, Brito MAVP et al. Genetic diversity and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* isolates from bovine mastitis in Minas Gerais, Brazil. *Microbiology Open* 2019; 8: e00736. doi: 10.1002/mbo3.736.
19. Tsuka T, Ozaki H, Saito D, Murase T, Okamoto Y, et al. Genetic Characterization of CTX-M-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* Associated With Bovine Mastitis in Japan. *Frontiers in Veterinary Science* 2021; 8: 659222. doi: 10.3389/fvets.2021.659222.
20. Monistero V, Barberio A, Cremonesi P, Castiglioni B, Morandi S, et al. Genotyping and Antimicrobial Susceptibility Profiling of *Streptococcus uberis* Isolated from a Clinical Bovine Mastitis Outbreak in a Dairy Farm. *Antibiotics* 2021; 10: 644. doi: 10.3390/antibiotics10060644.
21. Sheela P, Shekar M, Isloor S, Rathnamma D, Veeregowda BM, et al. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Staphylococcus chromogenes* isolated from bovine and bubaline mastitis in Karnataka. *Veterinary World* 2021; 14: 285-291. doi: 10.14202/vetworld.2021.285-291.
22. Qu Y, Zhao H, Nobrega DB, Cobo ER, Han B, et al. Molecular epidemiology and distribution of antimicrobial resistance genes of *Staphylococcus* species isolated from Chinese dairy cows with clinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 2019; 102: 1571-1583. doi: 10.3168/jds.2018-15136.
23. Yang X, Wang D, Li J, Meng X, Wei Y, et al. Molecular Epidemiology and Characteristics of *Streptococcus agalactiae* Isolated from Bovine Mastitis in Large Dairy Herds of China. *Pakistan Veterinary Journal* 2020; 40: 301-306. doi: 10.29261/pakvetj/2020.025.
24. Carvalho-Castro GA, Silva JR, Paiva LV, Custódio DAC, Moreira RO, et al. Molecular epidemiology of *Streptococcus agalactiae* isolated from mastitis in Brazilian dairy herds. *Brazilian Journal of Microbiology* 2017; 48: 551-559. doi: 10.1016/j.bjm.2017.02.004.
25. Turk R, Rosic N, Kules J, Horvatic A, Gelemanovic A, et al. Milk and serum proteomes in subclinical and clinical mastitis in Simmental cows. *Journal of Proteomics* 2021; 244: 104277. doi: 10.1016/j.jprot.2021.104277.
26. Sertkol C. Sütçü İneklerde Akut Klinik Mastitislerde Meme İçi Ozon Tedavisinin İyileştirici Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, MKÜ Sağ Bil Ens, Hatay 2016; s. 56. (thesis in Turkish with an English abstract).
27. Singh K, Mishra KK, Shrivastava N, Jha AK, Ranjan R. Epidemiological Studies on Subclinical Mastitis in Dairy Cows of Rewa District of Madhya Pradesh. *International Journal of Livestock Research* 2021; 11: 58-64. doi: 10.5455/ijlr.20210102070053.
28. Özdemir FÖ. Subklinik Mastitisli Sığırlardan Major Patojenlerin İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, ADÜ Sağ Bil Ens, Aydın 2018; s. 65. (thesis in Turkish with an English abstract).
29. Jaeger S, Virchow F, Torgerson PR, Bischoff M, Biner B, et al. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 2017; 100: 7419-7426. doi: 10.3168/jds.2016-12446.
30. Rudenko P, Sachivkina N, Vatinov Y, Shabunin S, Engashev S, et al. Role of microorganisms isolated from cows with mastitis in Moscow region in biofilm formation. *Veterinary World* 2021; 14: 40-48. doi: 10.14202/vetworld.2021.40-48.
31. Sharun K, Dhama K, Tiwari R, Gugjoo MB, Yattoo MI, et al. Advances in therapeutic and managerial approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly* 2021; 41: 107-136. doi: 10.1080/01652176.2021.1882713.
32. Özkan Ç. Aydın İli Söke İlçesinde Siyah-Alaca Sütçü İneklerde Subklinik Mastitis Prevalansının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, ADÜ Sağ Bil Ens, Aydın 2020; s. 63. (thesis in Turkish with an English abstract).
33. Dabele DT, Snr BMB, Admasu P, Gebremedhin EZ, Marami LM. Prevalence and Risk Factors of Mastitis and Isolation, Identification and Antibigram of *Staphylococcus* Species from Mastitis Positive Zebu Cows in Toke Kutaye, Cheliya, and Dendi Districts, West Shewa Zone, Oromia, Ethiopia. *Infection and Drug Resistance* 2021; 14: 987-998. doi: 10.2147/IDR.S295257.
34. Singh VK, Kumar A, Yadav SK. Antimicrobial susceptibility profiling of milk samples from bovine clinical mastitis. *International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases* 2016; 2: 52-55. doi: 10.5958/2455-6807.2016.00004.0.
35. Kurumisawa T, Kawai K, Shinozuka Y. Verification of a simplified disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing of bovine mastitis isolates. *Japanese Journal of Veterinary Research* 2021; 69: 135-143. doi: 10.14943/jjvr.69.2.135.
36. Scott P. Mastitis Part 11 - Summer Mastitis in Cattle. *NADIS Animal Health Skills* 2021; 1-3.
37. Bhatt S, Pradhan S, Roy K, Singh M, Dehariya P. Summer Mastitis-An Overview. *Rasksha Technical Review* 2020; 5: 14-15.
38. Forbes A. Ectoparasites in dairy cattle: summer grazing precautions. *Veterinary Times* 2017; 47: 6-8.
39. Madalcho EB. A Study on the Prevalence of Bovine Mastitis and Isolation of Major Pathogens Associated with it in and around Wolaita Sodo, Southern Ethiopia. *International Journal of Research Studies in Biosciences* 2019; 7: 40-48. doi: 10.20431/2349-0365.0702004.
40. Rose L, Laishram M, Lalawmpui H, Rungsung S, Anal W, et al. Summer Mastitis in Cows. *The North-East Veterinarian* 2017; 17: 23-25.
41. Aghamohammadi M. Economic Impacts of Mastitis in Canadian Dairy Herds. Master's Thesis, Montreal University, Montreal 2017; p. 123.
42. Angelopoulou A, Warda AK, Hill C, Ross RP. Non-antibiotic microbial solutions for bovine mastitis – live biotherapeutics, bacteriophage, and phage lysins. *Critical Reviews in Microbiology* 2019; 45: 564-580. doi: 10.1080/1040841X.2019.1648381.
43. Carrero L, Córdoba RG, Chirino-Zárraga C. Bovine Summer Mastitis During Venezuelan Rainy Season: Cases Reports At Yaracal, Falcon State. *Revista Científica, FCV-LUZ* 2017; 27: 351-358.

44. Ibrahim N. Review on Mastitis and Its Economic Effect. Canadian Journal of Scientific Research 2017; 6: 13-22. doi: 10.5829/idosi.cjsr.2017.13.22
45. Ishiyama D, Mizomoto T, Ueda C, Takagi N, Shimizu N, et al. Factors affecting the incidence and outcome of Trueperella pyogenes mastitis in cows. Journal of Veterinary Medical Science 2017; 79: 626-631. doi: 10.1292/jvms.16-0401.
46. Jaln NVK, Bhagwan J. Mastitis Control through Dry Cow Therapy. Indian Farmer 2017; 4: 915-918.
47. Biggs A. Update on dry cow therapy 2. measuring dry period performance. In Practice 2017; 39: 363-371. doi: 10.1136/inp.j3592.



Nörogenetik Hastalıklarda Alternatif Model Organizma: Köpekler*

 Sinan KANDIR¹✉

¹ Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Adana/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 20.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 05.11.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Kandır S. Nörogenetik Hastalıklarda Alternatif Model Organizma: Köpekler. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):96-100.

Özet: Köpekler, evcilleştirilme serüvenlerinde insanla yalnızca davranışsal olarak yakınlaşmakla kalmamış, birçok hastalığı da birlikte yaşar hale gelmiştir. Biyomedikal araştırmalar için uzun süreli, pahalı ve çok kontrollü deney hayvanları modelleri oluşturulmaktadır. Bunun yerine doğal olarak hastalığa sahip köpeklerin etik ve deontolojik kurallar çerçevesinde diagnostik, prognostik ve terapötik olarak değerlendirilmesi hem insan hem de hayvan tıbbında genetik hastalıkların fizyopatolojik mekanizmalarının anlaşılmasını kolaylaştırarak, yeni gen ve hücre tedavisi seçeneklerine olanak sağlayacaktır. Bu derlemede, translaşyonel araştırmalar yapmayı hedefleyen bilim insanlarına, köpeklerin insanlardaki ile benzer nörogenetik hastalıkları hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nöron, Genetik, Köpek genetiği, Translaşyonel tıp

Alternative Model Organism in Neurogenetic Diseases: Dogs

Abstract: The human has not been intimated the dog as only a behavioral during its domestication journey, but also many diseases have become to live together. Long-term, expensive and highly controlled experimental animal models are created for biomedical research. Instead of this, the use of naturally diseased dogs in the framework of ethical and deontological rules will facilitate understanding the physiopathological mechanisms of genetic diseases in both human and animal medicine. Thus, new gene and cell therapy options will be enabled. In this review, was aimed to give information, whose desired to do translational research, about canine neurogenetic diseases likely as humans.

Keywords: Neuron, Genetic, Canine genetics, Translational medicine

1. Giriş

Köpekgillerin (*Canidae*) tarihçesi yaklaşık 60 milyon yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Eosen dönemde, Miacis adı verilen ve gelinciğe benzeyen memelilerin, karnivor takımının atası olduğu düşünülmektedir. Miacis teorisine göre uzun yıllar sonunda, köpek benzeri *Cynodictis* adı verilen canlıdan ilk gerçek köpek evrimleşmiştir. Bu görüşü destekleyen en kuvvetli paleontolojik bulgunun, yaklaşık 40 milyon yaşındaki Prohesperocyon wilsoni (1986) cinsi fosil olduğu bildirilmektedir (1). İnsan tarafından evcilleştirilen ilk hayvan türlerinin başında gelen ve tarih boyunca insanoğlunun en yakın dostu olan evcil köpek (*Canis lupus familiaris*), 6400 ila 14000 yıl önce dünyanın farklı bölgelerinde farklı zaman dilimlerinde, bugün vahşi doğada halen yaşamlarını sürdüren ataları gri kurtlardan (*Canis lupus*) evcilleştirilmiştir (2, 3). Uluslararası Kinoloji Federasyonu (FCI) verilerine göre günümüzde 354 adet farklı köpek ırkı resmi olarak tanımlanmıştır (4).

İnsanoğlu anatomi ve fizyolojiyi anlayabilmek, biyomedikal araştırmalar yapmak için yüzyıllardır deneysel olarak

hayvanlardan faydalanmaktadır (5-8). Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülü'ne layık görülen 109 ödülün 18'inde köpeklerden yararlanılmıştır (5). Modern köpek ırklarının gelişimi yaklaşık 200 yıldır süregelen yoğun yapay seleksiyona dayanmaktadır. Bu sebeple, kinoloji federasyonları tarafından tanımlanan her safkan köpek ırkı kendi içinde yüksek fenotipik homojenite ve düşük genetik çeşitliliğe sahiptir (9). Bu durum, ırk spesifik hastalıklarda artışa neden olmaktadır. Köpek genomu, sekansı tamamlanan beşinci memelidir (10). Köpek, insan genomundan daha az bir genoma sahip olsa da yaklaşık 14.000 adet genin insandaki ile 1:1 oranında ortolog olduğu belirlenmiştir (11). Evcilleştirilen köpekler de tıpkı insanlar gibi barınma, beslenme, sosyalleşme gibi gereksinimlere ihtiyaç duymaktadır.

Köpek ve insan, evcilleştirme süreci içerisinde otoimmün, nörolojik, kardiyovasküler ve kanser gibi birçok hastalığı da benzer patogeneze yaşamaya başlamıştır. Bu hastalık gruplarından birisi de nörogenettir. Nöroektoderm ve buna bağlı gelişen anatomik yapıların farklılaşması ve

✉: sinankandir@cu.edu.tr

*Bu çalışma 5. Adana Genetik Günleri Nörogenetik Sempozyumu'nda (23-24 Mart 2019/Adana) davetli konuşma olarak sunulmuştur.

fonksiyonlarını bozan bir ya da daha fazla gende meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan klinik tablo nörojenetik hastalıklar olarak tanımlanır (12, 13). Dünyada bilinen 200 civarında nörojenetik hastalık vardır, bu hastalıklar insanoğlu kadar köpeklerin sağlığında da önem arz etmekte ve her geçen gün tanımlanan nörojenetik hastalık sayısı artmaktadır. Bu derlemede, köpek genetiğinin insanla olan genetik benzeşimleri ele alınarak ortak fizyopatolojiye sahip bazı nörojenetik hastalıkların aktarılması amaçlanmıştır.

2. Köpek genetiği

İnsan genom projesi (1990-2003) (14, 15) ile birlikte birçok memeli canlının da genom haritasının çıkarılması hem evcil hayvan sağlığının biyoteknolojik gelişimi, hem de karşılaştırmalı olarak transkripsiyonel araştırmalara yol göstermesi amacıyla başlatılmıştır. Genetik bilgi birikiminin artması, kompleks biyoinformatik analizlerin sürdürülmesini de sağlamıştır. Köpek genom analizi ile ilgili ilk çalışmalar 90'lı yıllar içerisinde dönemin teknolojisine uygun olarak yürütülmüştür. Mellersh ve ark. (16) tarafından genetik bağlantı haritalama yöntemi kullanılarak, üç nesil pedigrili 17 köpeğe ait 150 mikrosatelit belirtecin incelendiği araştırma ile köpek genom haritasının ilk parçaları oluşmaya başlamıştır. Uzun yıllardır devam eden Köpek Genom Projesi kapsamında, Lindblad-Toh ve ark. (2005) tarafından dişi Boxer ırkı bir köpeğe ait ilk yüksek kaliteli genetik harita (7.5x) yayımlanmıştır (11). Dünya genelinden köpek genetiği uzmanları Dog10K adı altında 2015 yılında Uluslararası Köpek Genom Sekanslama Konsorsiyumunu (International Consortium of Canine Genome Sequencing) oluşturmuştur. Bu konsorsiyumun başlıca amaçları, köpekgiller ailesinden 10000 üyenin tüm genom analizini tamamlayarak hali hazırda araştırmacıların kullanmış olduğu Boxer ırkına ait genom bilgisine yeni referans genomlar eklemek, yüksek kaliteli (20x) genom haritası oluşturarak ırklar ve türler arası karşılaştırmalı köpek genom haritasının ortaya koymaktır (17, 18).

İnsan 22 çift otozomal ve iki cinsiyet kromozomundan oluşan toplam 46 çift, köpek genomu ise 38 çift otozomal ve iki cinsiyet olmak üzere toplam 78 kromozoma sahiptir (Şekil 1) (19-21). Köpek genomu 2.41 giga baz (Gb) büyüklüğü ile 2.91 Gb'lık insan genomundan daha küçük kalmaktadır (22-24). Kirkness ve ark. (26) tarafından köpek (1.5x) ve insan genomik fragmentlerinin karşılaştırıldığı çalışmada, kodlayan bölge sekansında %61 oranında uyum bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu oran fare (*Mus musculus*) de yaklaşık %77'dir. Ancak, transkripsiyon düzeyinde insan genomu ile birebir örtüşen fare genomundaki %80'lik (29,529 transkript) oran, köpek genomu ile karşılaştırıldığında %96'ya (29,673 transkript) çıkmaktadır. Köpek, insan ve fare arasındaki bu farkın evrimsel olarak soyların ayrışmasında homolog genlerin kaybolması sebebiyle olabileceği vurgulanmıştır (26). Bu görüşü,

filogenetik çalışmaları da desteklemektedir. İnsan ve köpek arasındaki karşılaştırma, insan genomunun %5.3'ünün her iki soyda da saflaştırma seçimi altında olan fonksiyonel elementleri içerdiğini göstermektedir. Fareler hariç olmak üzere bu elementlerin tümü memelilerde ortak bir fonksiyonel elementler kümesini temsil etmektedir (11). İnsan, köpek ve fare nükleer genomunda gerçekleştirilen detaylı filogenomik analiz sonucunda, fare hariç olmak üzere insan ve köpeğin güçlü akrabalık bağı olduğunu, ilaveten rat, şempanze, makak, inek gibi farklı türlerin analize dahilinde filogenetik ağacın topolojisinin etkilemediği bildirilmiştir (27). Elde edilen bu veriler, evcilleştirme, davranış ve hastalıklar gibi pek çok açıdan değerlendirilebilir.

3. Köpeklerin nörojenetik hastalıkları

Hayvanlarda Çevrimiçi Mendelyan Kalıtsal Hastalıklar (Online Mendelian Inheritance in Animals / OMIA) veritabanına göre 2021 yılı itibarıyla köpeklerde toplamda 819 adet tanımlanan kalıtsal hastalığın 452'si Çevrimiçi Mendelyan Kalıtsal Hastalıklar (Online Mendelian Inheritance in Man / OMIM) veritabanındaki kalıtsal insan hastalıklarına potansiyel model olarak bildirilmiştir (28, 29). Köpek ve insanlarda ortak görülen kalıtsal hastalıkların (çeşitli kanser tipleri, kan, kardiyovasküler, üriner, reproduktif, endokrin, musküler, respiratorik, dermatolojik, otoimmün ya da nörolojik hastalıklar) benzer fizyopatolojiye sahip olduğu bilinmektedir (23, 30). Köpeklerde görülen ve tablo 1. de sunulan bazı nörojenetik hastalıklar kalıtsal kökenlidir. Bu hastalıkların çoğu otozomal resesif karakterde olup ırk spesifitesine sahiptir.

İnsanlarda özellikle çocukluk döneminde sık görülen X-bağlı musküler distrofilerinden biri olan Duchenne Musküler Distrofi (DMD); X kromozomunun Xp21.2 lokusunda yer alan 79 ekzondan oluşan distrofin geninde meydana gelen delesyon, duplikasyon, insersiyon veya nonsense mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (32). İnsanlardakine benzer distrofin mutasyonuna sahip transgenik mdx fare modelleri en çok kullanılan hayvan modeli olmasına karşın, insanlardakinin aksine genç dönemde dilate kardiyomyopati gelişmemesi bakımından, hastalığın patogenezi insana göre hafif kalmaktadır. Bu durum, elde edilen bulguları transkripsiyonel aşamada sınırlamaktadır (33, 34). Golden Retriever, Cavalier King Spaniel, Irish Terrier, Alman Kısa Tüylü Pointer gibi köpek ırklarında Canine X-bağlı musküler distrofiler doğal yollarla var olabileceği gibi deneysel olarak da oluşturulabilmekte, insan ile benzer patogeneze ve klinik bulgular görülmektedir (33, 35-37).

Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS), motor nöronlarda dejenerasyon ile karakterize ölümcül bir hastalıktır. ALS hastalığının fizyopatolojisinde kalıtsal yatkınlık yaklaşık %10-20 civarındadır. Hastalığın etiolojisinde süperoksit

dismutaz 1 (SOD1) ve C9ORF72 genlerinde meydana gelen mutasyonlar başlıca rol oynamaktadır (38, 39). Çoğunlukla transgenik model olarak zebra balığı, fare, rat gibi deney hayvanları ile translasyonel çalışmalar yürütülmeye çalışılsa da hastalığın insanlardaki ile aynı patogeneze gerçekleşmemesi özellikle farmakolojik araştırmalarda dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır (40). Canine Dejeneratif Miyelopati (CDM), birçok ırkta karşılaşılabilen, üst motor nöronun spastik paraparezisi ve arka bacakta genel proprioseptif ataksi ile başlayan ve alt motor nöronlara sirayet eden tetraparezis ile karakterize, nörodejeneratif bir hastalıktır. Son çalışmalar, köpeklerdeki CDM'nin de SOD1 genindeki yanlış anlamlı (missense) mutasyona bağlı olarak şekillendiğini göstermektedir (41, 42). CDM hastalığı fizyopatolojik olarak ALS ile oldukça benzerdir. Bu sebeple, ALS hastalığı için yürütülen translasyonel araştırmalar ve yeni biyoteknolojik tedavi stratejileri CDM hastalığına sahip köpekler ile geliştirilmektedir (43, 44).

Otoimmün nöromusküler kavşak hastalığı olan Myasthenia Gravis (MG) araştırmalarında tavşan, rat ve sıçanlardan faydalanılmaktadır (45). İnsan ve hayvanlarda aynı fizyopatolojik özelliğe sahip, nöromusküler kavşak hastalığı olan MG kaslarda çabuk yorulma, güç kaybı ve megaözefagus ile karakterizedir. Etiyopatolojisinde nikotinik asetil kolin reseptörlerinin fonksiyonel bozukluğu veya yokluğu olmakla birlikte, otoimmün hastalıklarla bağlantılı olarak görülebilmektedir. Nitekim, ilerleyen yaşlarda T-lenfosit olgunlaşmasından sorumlu timus bezlerinde meydana gelen tümörlerle myasthenia gravis sendromu arasında sıkı bir ilişki bulunduğu bildirilmektedir (46-48).

Yine sık görülen kalıtsal demiyelinizan nöropatilerden birisi olan Charcot-Marie-Tooth (CMT) hastalığı, güncel çalışmalar ışığında Leonberger, Siyah Rus Terrier, Cocker Spaniel, Podhale (Tatra) Çoban Köpeği ve Minyatür Schnauzer ırkları arasında da varlığı ortaya konmuş ve insanlardaki ile benzer klinik tabloların ortaya çıktığı bildirilmiştir (49). CMT hastalığının birçok farklı alt tipi bulunmaktadır, Minyatür Schnauzer ırkı bir köpekte CMT4B2 alt tipinin 21. kromozomda bulunan SBF2/MTMR13 (SET-binding factor 2 / myotubularin-related protein-13) geninin 19. ekzonunda meydana gelen varyasyondan kaynaklandığı ortaya konmuştur (50). İnsanda da CMT4B2 hastalığında SBF2/MTMR13 genindeki varyasyonların sebep olduğu bilinmektedir (51, 52).

4. Sonuç

Veteriner hekimliğinde, tıp hekimliğine kıyasla nörogenetik hastalıkların tanısı daha zor konulmakta ve hayvanların yaşam kalitesi olumsuz etkilenmektedir. Bu süre zarfında birçok hasta çeşitli sebeplerle kaybedilebilmekte ya da sokağa terk edilebilmektedir. Veteriner hekimler, güncel biyoteknolojik gelişmeler karşısında hayvan ve insan

sağlığına yapmış oldukları katkılara yenilerini eklemek için tam donanımlı olmalıdır. Köpeklerin, gerek sergiledikleri fiziksel ve davranışsal paternler, gerekse morfolojik ve fizyolojik özellikleri nedeniyle sıçan, fare, tavşan, zebra balığı gibi model organizmalara kıyasla daha çok insana benzemeleri, onları genetik çalışmalarda ön sıralara taşımaktadır. Irklar arası görülen yüksek genetik çeşitliliğin, ırk içinde görülmemesi, hastalıkların genetik temellerini kavrama açısından büyük önem arz etmektedir.

Bu bağlamda, etik kurallar çerçevesinde köpek ve insanlarda görülen nörogenetik hastalıkların fizyopatolojik mekanizmalarını anlama, yeni gen ve hücrel tedavi protokolleri geliştirme ve farmakolojik ajan uygulamaları için köpekler sahip oldukları doğal hastalıklar yolu ile iyi birer model organizmadır. Veteriner hekimler ve tıp hekimlerinin oluşturacağı bir konsorsiyum ile klinik araştırmalar için ülkemizde hızlı ve yeni biyomedikal araştırma ve ürün geliştirme dönemi başlatılabileceği kanaatindeyiz.

Teşekkür

Derlemenin tam metin yazımında değerli katkılar sunan Prof. Dr. Ayşe Filiz KOÇ ve Doç. Dr. Handan Hilal YAVUZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Kaynaklar

1. Wang X, Tedford RH. Dogs: Their Fossil Relatives and Evolutionary History. USA: Columbia University Press, 2008; p.219.
2. Botigue LR, Song S, Scheu A, Gopalan S, Pendleton AL, et al. Ancient European dog genomes reveal continuity since the Early Neolithic. Nature Communications 2017; 8:16082. doi: 10.1038/ncomms16082.
3. Frantz LA, Mullin VE, Pionnier-Capitan M, Lebrasseur O, Ollivier M et al. Genomic and archaeological evidence suggest a dual origin of domestic dogs. Science 2016; 352:6290:1228-1231. doi: 10.1126/science.aaf3161.
4. Hedhammar ÅA, Indrebø A. Rules, regulations, strategies and activities within the Fédération Cynologique Internationale (FCI) to promote canine genetic health. The Veterinary Journal 2011; 189:2:141-146. doi:10.1016/j.tvjl.2011.06.011.
5. Franco NH. Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective. Animals (Basel) 2013; 3:1:238-273. doi: 10.3390/ani3010238.
6. Kandır S, Keskin E. Serum IL-1 beta, IL-6, IL-10 and TNF-alpha Levels in Thyroidectomized Rats. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2016; 22:2:297-300. doi: 10.9775/kvfd.2015.14371.
7. Kandır S, Keskin E. Effects of hypothyroidism and hyperthyroidism on hematological parameters in rats. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2016; 63:4:371-376. doi: 10.1501/Vetfak_0000002755.
8. Kandır S, Er C, Karakurt S. Pre- and post-exercise ADAMTS-4 and ADAMTS-5 Levels in Concur Horses. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2020; 13:2:99-103. doi: 10.47027/duvetfd.738477.
9. Hytonen MK, Lohi H. Canine models of human rare disorders. Rare Dis 2016; 4:1:e1241362. doi: 10.1080/21675511.2016.1241362.

10. Lindblad-Toh K. What animals can teach us about evolution, the human genome, and human disease. *Upsala Journal of Medical Sciences* 2020; 125:1-9. doi: 10.1080/03009734.2020.1722298.
11. Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS, Karlsson EK, Jaffe DB, et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 2005; 438:803-819. doi: 10.1038/nature04338.
12. Muller U, Graeber MB. Neurogenetic diseases: molecular diagnosis and therapeutic approaches. *Journal of Molecular Medicine* 1996; 74: 71-84. doi: 10.1007/BF00196782.
13. Vallat JM, Goizet C, Tazir M, Couratier P, Magy L, et al. Classifications of neurogenetic diseases: An increasingly complex problem. *Revue Neurologique (Paris)* 2016; 172: 339-349. doi: 10.1016/j.neurol.2016.04.005.
14. Green ED, Watson JD, Collins FS. Human Genome Project: Twenty-five years of big biology. *Nature* 2015; 526: 29-31. doi: 10.1038/526029a.
15. Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science* 2003; 300: 286-290. doi: 10.1126/science.1084564.
16. Mellersh CS, Langston AA, Acland GM, Fleming MA, Ray K, et al. A linkage map of the canine genome. *Genomics* 1997; 46: 326-336. doi: 10.1006/geno.1997.5098.
17. Parker HG, Ostrander EA. Canine genomics and genetics: running with the pack. *PLoS Genetics* 2005; 1:5:e58. doi: 10.1371/journal.pgen.0010058.
18. Wang GD, Larson G, Kidd JM, vonHoldt BM, Ostrander EA et al. Dog10K: the International Consortium of Canine Genome Sequencing. *National Science Review* 2019; 6: 611-613. doi: 10.1093/nsr/nwz068.
19. Park C-E. Study on chromosomes survey of Korea native dogs. *Korean Journal of Veterinary Service* 2011; 34: 291-296. doi: 10.7853/KJVS.2011.34.3.291.
20. Switonski M, Reimann N, Bosma AA, Long S, Bartnitzke S, et al. Report on the progress of standardization of the G-banded canine (*Canis familiaris*) karyotype. Committee for the Standardized Karyotype of the Dog (*Canis familiaris*). *Chromosome Research* 1996; 4: 306-309. doi: 10.1007/BF02263682.
21. Reimann N, Bartnitzke S, Nolte I, Bullerdiek J. Working with canine chromosomes: current recommendations for karyotype description. *Journal of Heredity* 1999; 90: 31-34. doi: 10.1093/jhered/90.1.31.
22. Ostrander EA, Wayne RK. The canine genome. *Genome Research* 2005; 15:1706-1716. doi: 10.1101/gr.3736605.
23. Breen M. Canine cytogenetics--from band to basepair. *Cytogenetic and Genome Research* 2008; 120: 50-60. doi: 10.1159/000118740.
24. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291:5507:1304-1351. doi: 10.1126/science.1058040.
25. Giersch ABS. Introduction to Cytogenetics. McManus LM, Mitchell RN. eds. In: *Pathobiology of Human Disease*. San Diego: Academic Press; 2014, p.3304-3310.
26. Kirkness EF, Bafna V, Halpern AL, Levy S, Remington K, et al. The dog genome: survey sequencing and comparative analysis. *Science* 2003; 301: 1898-1903. doi: 10.1126/science.1086432.
27. Cannarozzi G, Schneider A, Gonnet G. A phylogenomic study of human, dog, and mouse. *PLoS Computational Biology* 2007; 3: e2. doi: 10.1371/journal.pcbi.0030002.
28. Nicholas FW. Online Mendelian Inheritance in Animals (OMIA): a record of advances in animal genetics, freely available on the Internet for 25 years. *Animal Genetics* 2021; 52: 3-9. doi: 10.1111/age.13010.
29. Nicholas FW. Online Mendelian Inheritance in Animals (OMIA): a comparative knowledgebase of genetic disorders and other familial traits in non-laboratory animals. *Nucleic Acids Research* 2003; 31: 275-277. doi: 10.1093/nar/gkg074.
30. Starkey MP, Scase TJ, Mellersh CS, Murphy S. Dogs really are man's best friend--canine genomics has applications in veterinary and human medicine! *Briefings in Functional Genomics & Proteomics* 2005; 4: 112-128. Doi: 0.1093/bfpg/4.2.112.
31. Nicholas FW, Crook A, Sargan DR. Internet resources cataloguing inherited disorders in dogs. *The Veterinary Journal*. 2011; 189: 132-135. doi:10.1016/j.tvjl.2011.06.009.
32. Okubo M, Minami N, Goto K, Goto Y, Noguchi S, et al. Genetic diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy using next-generation sequencing: validation analysis of DMD mutations. *Journal of Human Genetics* 2016; 61: 483-489. doi: 10.1038/jhg.2016.7.
33. Banks GB, Chamberlain JS. The value of mammalian models for duchenne muscular dystrophy in developing therapeutic strategies. *Current Topics in Developmental Biology* 2008; 84: 431-453. doi: 10.1016/s0070-2153(08)00609-1.
34. Yucel N, Chang AC, Day JW, Rosenthal N, Blau HM. Humanizing the mdx mouse model of DMD: the long and the short of it. *NPJ Regenerative Medicine* 2018; 3:4. doi: 10.1038/s41536-018-0045-4.
35. Amoasii L, Hildyard JCW, Li H, Sanchez-Ortiz E, Mireault A, et al. Gene editing restores dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Science* 2018; 362: 86-91. doi: 10.1126/science.aau1549.
36. McClorey G, Moulton HM, Iversen PL, Fletcher S, Wilton SD. Antisense oligonucleotide-induced exon skipping restores dystrophin expression in vitro in a canine model of DMD. *Gene Therapy* 2006; 13: 1373-1381. doi: 10.1038/sj.gt.3302800.
37. Schatzberg SJ, Olby NJ, Breen M, Anderson LV, Langford CF, et al. Molecular analysis of a spontaneous dystrophin 'knockout' dog. *Neuromusc Disorders* 1999; 9: 289-295. doi: 10.1016/s0960-8966(99)00011-5.
38. Mejzini R, Flynn LL, Pitout IL, Fletcher S, Wilton SD, et al. ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now? *Frontiers in Neuroscience* 2019; 13:1310. doi: 10.3389/fnins.2019.01310.
39. İşcan D, Koç F. Amiyotrofik Lateral Skleroz ve Gen Mutasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2019; 28:2:161-169. doi: 10.17827/akt.421472.
40. Morrice JR, Gregory-Evans CY, Shaw CA. Animal models of amyotrophic lateral sclerosis: A comparison of model validity. *Neural Regeneration Research* 2018; 13: 2050-2054. doi: 10.4103/1673-5374.241445.
41. Fiszdón K, Gruszczynska J, Siewruk K. Canine Degenerative Myelopathy-pathogenesis, current diagnostics possibilities and breeding implications regarding genetic testing. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica* 2020; 19: 3-10. doi: 10.21005/asp.2020.19.1.01.
42. Coates JR, Wininger FA. Canine degenerative myelopathy. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 2010; 40:5:929-950. doi: 10.1016/j.cvs.2010.05.001.
43. Awano T, Johnson GS, Wade CM, Katz ML, Johnson GC, et al. Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009; 106: 2794-2799. doi: 10.1073/pnas.0812297106.

44. Crisp MJ, Beckett J, Coates JR, Miller TM. Canine degenerative myelopathy: biochemical characterization of superoxide dismutase 1 in the first naturally occurring non-human amyotrophic lateral sclerosis model. *Experimental Neurology* 2013; 248:1-9. doi: 10.1016/j.expneurol.2013.05.009.
45. Mantegazza R, Cordiglieri C, Consonni A, Baggi F. Animal models of myasthenia gravis: utility and limitations. *International Journal of General Medicine* 2016; 9:53-64. doi: 10.2147/IJGM.S88552.
46. Shelton GD. Myasthenia gravis and disorders of neuromuscular transmission. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 2002; 32: 189-206, vii. doi: 10.1016/s0195-5616(03)00085-8.
47. Shelton GD, Schule A, Kass PH. Risk factors for acquired myasthenia gravis in dogs: 1,154 cases (1991-1995). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1997; 211: 1428-1431.
48. Robat CS, Cesario L, Gaeta R, Miller M, Schrempp D, et al. Clinical features, treatment options, and outcome in dogs with thymoma: 116 cases (1999-2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2013; 243: 1448-1454. doi: 10.2460/javma.243.10.1448.
49. Granger N. Canine inherited motor and sensory neuropathies: an updated classification in 22 breeds and comparison to Charcot-Marie-Tooth disease. *The Veterinary Journal* 2011; 188: 274-285. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.06.003.
50. Granger N, Lujan Feliu-Pascual A, Spicer C, Ricketts S, Hitti R, et al. Charcot-Marie-Tooth type 4B2 demyelinating neuropathy in miniature Schnauzer dogs caused by a novel splicing SBF2 (MTMR13) genetic variant: a new spontaneous clinical model. *PeerJ* 2019; 7:e7983. doi: 10.7717/peerj.7983.
51. Lassuthova P, Vill K, Erdem-Ozdamar S, Schroder JM, Topaloglu H, et al. Novel SBF2 mutations and clinical spectrum of Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 4B2. *Clinical Genetics* 2018; 94: 467-472. doi: 10.1111/cge.13417.
52. Chen M, Wu J, Liang N, Tang L, Chen Y, et al. Identification of a novel SBF2 frameshift mutation in charcot-marie-tooth disease type 4B2 using whole-exome sequencing. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2014; 12: 221-227. doi: 10.1016/j.gpb.2014.09.003.



Kedi ve Köpeklerde Kullanılan Bazı İmmüsupresif İlaçlar ve Kullanım Amaçları

Ömer AYDIN¹, Mustafa Sinan AKTAŞ¹

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 24.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 08.11.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Aydın O, Aktaş MS. Kedi ve Köpeklerde Kullanılan Bazı İmmüsupresif İlaçlar ve Kullanım Amaçları. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):101-107.

Özet: İmmün sistem tümör hücrelerini ve patojen ajanları tanıyarak hastalıklara karşı organizmayı koruyan bir sistemdir. Organ nakillerinde, bazı yangısal ve otoimmün hastalıklarda immüsupresif tedavi kullanılmaktadır. İmmün sistemin dengesi immün sistemin baskılanması ve artırılması şeklinde düzenlenmektedir. İmmüsupresif ilaçlar etki şekillerine göre nonspesifik immüsupresyon oluşturanlar [(radyasyon, kortikosteroidler, sitotoksik ilaçlar (alkilleyici ajanlar, folik asit antagonistleri, DNA sentez inhibitörleri)] ve seçici immüsupresyon oluşturanlar (kalsinörin inhibitörleri, rapamisin inhibitörleri, inosin monofosfat dehidrojenaz inhibitörleri, leflunomid, lenfosit deplezyon tedavisi, intravenöz immünglobulin tedavisi) olarak ikiye ayrılmaktadır. İmmüsupresif ilaçlar tek başlarına kullanılabilceği gibi kombine ilaç tedavisi şeklinde de kullanılabilir. Bu derlemede küçük hayvan hekimliğinde en fazla kullanılan bazı immüsupresif ilaçların genel özellikleri ve kullanıldığı durumlar güncel literatürler ışığında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İmmün sistem, İmmüsupresif ilaçlar, İmmünmodulator, Tedavi

Some Immunosuppressive Drugs Used in Cats and Dogs and Their Purposes

Abstract: The immune system is a system that protects the organism against diseases by recognizing tumor cells and pathogenic agents. Immunosuppressive therapy is used in organ transplants, some inflammatory and autoimmune diseases. The balance of the immune system is regulated by suppressing and increasing the immune system. Immunosuppressive drugs are divided into nonspecific [(radiation, corticosteroids, cytotoxic drugs (alkylating agents, folic acid antagonists, DNA synthesis inhibitors)] and selective immunosuppressants (calcineurin inhibitors, rapamycin inhibitors, inosine monophosphate dehydrogenase inhibitors, leflunomid, lymphocyte depletion treatment, intravenous immunoglobulin therapy) according to their mode of action. Immunosuppressive drugs can be used alone or as combined drug therapy. In this review, the general characteristics of some immunosuppressive drugs that are most used in small animal medicine and the situations in which they are used are given in the light of the current literature.

Keywords: Immune system, Immunosuppressive drugs, Immunomodulatory, Treatment

1. Giriş

İmmün sistem patojen ajanları ve tümör hücrelerini tanıyarak hastalıklara karşı organizmayı koruyan bir sistemdir (1). Organizmanın ya kendi mekanizması ya da dış faktörlerden dolayı immün sistemin etkisinin veya aktivasyonunun azalması immüsupresyon olarak tanımlanmaktadır (2). İmmüsupresif ilaçlar alerjik ve otoimmün hastalıklarda ve organ nakli sonrası durumlarda kullanılmaktadır. Bu ilaçların bazıları geniş çaplı etkiler oluştururken bazıları spesifik durumlarda kullanım alanına sahiptir (3). İmmün sistemin düzenlenmesi immün cevaptaki değişimlerle şekillenmektedir. Bu cevaptaki değişimler ise immün yanıtın baskılanması veya artırılması şeklinde oluşabilmektedir (4). İmmüsupresif etkili bileşikler; etki şekline göre; nonspesifik immüsupresyon oluşturan; radyasyon, kortikosteroidler, sitotoksik ilaçlar (alkilleyici ajanlar, folik asit antagonistleri, DNA sentez inhibitörleri) ve seçici immüsupresyon oluşturanlar [(kalsinörin inhibitörleri, rapamisin inhibitörleri, inosin monofosfat dehidrojenaz inhibitörleri, leflunomid, lenfosit deplezyon

tedavisi, intravenöz immünglobulin (Ig) tedavisi)] olmak üzere iki gruba ayrılırlar (5). Bu derlemede küçük hayvan hekimliğinde en fazla kullanılan bazı immüsupresif ilaçların genel özellikleri ve kullanıldığı durumlar hakkında bilgi verilmiştir.

2. Nonspesifik immüsupresifler

2.1. Radyasyon

Radyasyon, kemik iliği kök hücrelerinin apoptozuna ve stromal hasara neden olabilmektedir. Bu durum miyelosupresyon, karakteristik patolojik ve radyografik kemik iliği değişikliklerine neden olmaktadır (6). Ultraviyole radyasyonunun (UV) bağışıklık sistemini baskılama mekanizma yollarından biri derinin epidermis tabakasında langerhans hücrelerinin sayısını azaltarak X ışınlarının lenf sistemine geçişine neden olmasıdır (7). UV'nin etkisiyle derideki hücrel ve moleküler yapıdaki bozulmanın sebeplerinden biri de lenfosit aktivasyonunun azalmasıdır (8). Kedilerde nazal kaviteye yerleşen karsinomaların tedavisinde radyoterapinin klinik bulgular

üzerine ve yaşam süresine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 28 kediden 24'ünün tedaviye cevap verdiği ve ortalama yaşam süresinin 342 gün olduğu ifade edilmiştir. Çalışmanın sonucunda nazal karsinomalarda radyoterapinin etkili olduğu ve ortalama yaşam süresinin ise hastalığın erken fazında yakalanabilirse daha da uzayabileceği sonucuna varılmıştır (9). Radyasyonun akut etkileri yaygındır ve bu etkilerin radyasyon dozuna göre değişebileceği bilinmektedir. Yaygın bir şekilde görülen bu yan etkiler mukozaların yangısı, yaş karakterde epidermal yangı ve radyasyonla irrite olmuş alanda oluşan keratitistir. Radyasyonun akut etkilerinin aksine geç şekillenebilen etkileri aylardan yıllara kadar uzayabilir. Bu yan etkiler ise nekrozis, fibrozis, iyileşmeyen ülserasyonlar, sentral sinir sistemi bozuklukları ve körlük olarak sıralanabilmektedir. Lokal olarak şekillenen radyasyon maruziyetinde muhtemelen sitokin yayılımı ve kan sirkülasyonuna geçen radyasyonun lenfositleri etkilemesinden dolayı immün sistem baskılanabilmektedir (10).

2.2. Kortikosteroidler

Kortikosteroidlerin etkisi ilk kez 1953'te Dempster tarafından kanın doku reddi modellerinde gösterilmiştir. Marino ve Doyle steroidlerin lokal ve sistemik kullanımıyla tavşanlarda deri naklinin ömrünün önemli bir şekilde uzadığını belirtmişlerdir (11). Kortikosteroidlerin mineralokortikoid ve glikokortikoid olmak üzere iki türü vardır ve bunların sırasıyla metabolik ve elektrolit dengesi üzerine etkileri bulunmaktadır. Glikokortikoidlerin karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasının yanında kardiyovasküler, immün, böbrek, iskelet, endokrin ve sinir sistemi üzerine de etkileri bulunmaktadır (12). Kortikosteroidlerin immün sistem üzerine başlıca iki ana immüsupresif etkisi vardır. Birincisi; retikuloendotelyal sistemde yardımcı T hücrelerinin (CD4⁺) tutulmasına neden olurlar, ikincisi ise; lenfokinler ve sitokinlerin inhibisyonuyla lenfositlerin hem çoğalması hem de fonksiyonlarını yavaşlatırlar (13). Glikokortikoidler antienflamatuvar ve immüsupresif etkilerinden dolayı veteriner hekimlikte geniş bir kullanım alanına sahiptir. Glikokortikoidler yangının hem erken hem de geç fazında şekillenen kızarıklık, şişlik, ısı ve ağrı gibi semptomları inhibe etmektedir (14). Glikokortikoidler köpeklerde yangısal ve otoimmün hastalıklar ile kedilerde immün hemolitik anemi, immün hemolitik trombositopeni, immün aracılı poliartritis, yangısal bağırsak hastalığı (YBH) ve kedilerin astımı gibi hastalıklarda kullanılmaktadır (15). Köpeklerde çiğneme kası miyozitinin (masticatory muscle myositis) tedavisinde deksametazonun güvenilirliği ve etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (16) tedavi alan gruptaki köpeklerin %93'ünde iki hafta içerisinde iyileşmenin belirlendiği, on hafta içerisinde de %100 oranında semptomlarda ileri derece bir gerilemenin şekillendiği bildirilmiştir. Deney grubundaki köpeklerin

%35'inde ılımlı yan etkilerin görüldüğü ve tedavi sonlandırılınca yan etkilerin ortadan kalktığı ifade edilmiştir. Sonuçta deksametazonun etkili ve güvenli bir ilaç olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Kortikosteroidlerin yan etkileri iatrojenik hiperadrenokortizm, adrenal bezlerin supresyonu, gastrointestinal ülserasyon, insülin direnci ve sekonder olarak şekillenen diabetes mellitus, kas yıkımlanması, yara iyileşmesinin gecikmesi, fırsatçı enfeksiyonların şekillenmesi ve davranış değişikliği olarak sıralanabilir. Glikokortikoidlerin nonsteroid ilaçlarla birlikte kullanılması gastrointestinal ülserasyon ve perforasyon riskinden dolayı kontraendikedir (17).

2.3. Sitotoksik ilaçlar

Sitotoksik ilaçlar nükleik asit sentezini ve aktivitesini durdurarak hücresel bölünmeyi engellerler. Halen kullanılmakta olan başlıca sitotoksik ilaçlar alkilleyici ajanlar, folik asit antagonistleri ve DNA sentez inhibitörleridir (5).

2.3.1. Alkilleyici ajanlar

Alkilleyici ajanların en önemlisi siklofosfamiddir ve özellikle immünokompetan hücreleri ayırmak için istirahat halindeki ve bölünen hücreler üzerinde toksik etki oluşturmaktadır. Siklofosfamid hem T hem de B lenfosit cevabını özellikle de kalıtsal immün cevabı bozmakta, mitojen ve antijen kaynaklı hücre bölünmesini ve interferon gama üretimini engellemekte ve B lenfositlerin antijen reseptörlerini yeniden oluşturmalarını önlemektedir (5). Siklofosfamid antineoplastik ilaç olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca kan ve kemik iliği nakillerinde de kullanım alanına sahiptir (18). Siklofosfamid köpeklerde immün hemolitik anemi (IMHA) ve diğer immün hastalıklarda yoğun bir şekilde kullanım alanına sahiptir. Siklofosfamidin antitümör etkisi uygulanan immüsupresyon ve sitotoksik etkilerle sonuçlanan doz oranına bağlıdır (19). Cunha ve ark. (20) kedilerde kemoterapötiklerin yan etkilerini araştırdıkları bir çalışmada siklofosfamid uygulanan kedilerde iştahsızlık, kusma ve nötropeni şekillendiğini ve kanserli kedilerin tedavisinde siklofosfamidin dikkatli kullanılması, yeterli dozda antiemetik bir ajanla birlikte kullanılması ve kediye gerekli besinsel desteğinin sağlanması gerektiğini ifade etmişlerdir. Kedilerde alimenter lenfomanın tedavisinde klorambusil uygulanmasıyla hastalığın nüks etmesinden sonra siklofosfamidin tedaviye eklenmesinin oldukça etkili olduğu ve yan etkilerinin de minimal düzeyde olduğu bildirilmiştir (21).

2.3.2. Folik asit antagonisti

Metotreksat dihidrofolat redüktaz enziminin inhibitörüdür ve hayvanlarda çeşitli tümörlerin sağaltımında etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Kedilerde lenforetiküler neoplaziler ve miyeloproliferatif hastalıklarda

uygulanmaktadır (22). Ayrıca streoidlere dirençli polimiyozitis, üveitis, pemfigus ve troiditis gibi hastalıklarda da kullanılmaktadır (23). Bu immüsupresanın etkisiyle tetrahidrofolat sentezi bloke ve timidin ile pürin nükleotidlerinin sentezi inhibe olmaktadır ve sonuçta antikor oluşumu baskılanmaktadır (5). Kanın B hücreleri lenfomaların tedavisinde metotreksatin spesifik bir sitotoksik etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır (24). Yuki ve ark. (25) protein kayıplı enteropatili bir köpekte metotreksak kullanımıyla total protein ve albumin seviyelerinin hızlı bir şekilde normale döndüğünü, kedi ve köpek gibi hayvanlarda daha çok neoplazilerde kullanılan metotreksatin protein kayıplı enteropati hastalığında da hem inflamatuvar hem de immüsupresif etkilerinden dolayı tedavide kullanılması gereken bir ilaç olduğunu ifade etmişlerdir. Yan etki olarak gastrointestinal bulgular (kusma ve ishal vb.) ve kemik iliği supresyonu şekillenebileceği belirtilmektedir (23).

2.3.3. DNA sentez inhibitörü

DNA sentez inhibitörü olan azatiyoprin, pürin metabolizmasını antagonize ederek DNA, RNA ve proteinlerin sentezini inhibe etmektedir. Ayrıca hücre metabolizmayı engeller ve mitozu durdurmaktadır. Azatiyoprin, nükleik asit sentezi üzerindeki etkilerine ek olarak bağışıklık sistemini de çeşitli şekillerde etkiler. Bunlar; monositlerin ve langerhans hücrelerinin sayısını geri dönüşümlü olarak azaltması, gamma globulin sentezini ve T lenfosit fonksiyonunu bozması ve CD4⁺ hücrelerine ve baskılayıcı B lenfositlerinin fonksiyonuna bağlı B lenfositlerin tepkilerini etkilemesidir (26). Azatiyoprin veteriner hekimliğinde immün hemolitik anemi, immün trombositopeni, immün aracılı poliartritis, sistemik lupus eritematozus ve myasteni gravis gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (27, 28). Kediler kemik iliğinin baskılanmasına çok duyarlı olduklarından dolayı azatiyoprin kullanılması tavsiye edilmemektedir (29). Piek ve ark. (30) idiopatik immün hemolitik anemili köpekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada prednizolon ile birlikte azatiyoprin uygulamasının klinik belirtileri hafiflettiğini ve hayatta kalma oranını artırdığını belirtmişlerdir. Köpeklerde azatiyoprin kullanılmasına bağlı en önemli yan etkiler miyelosupresyon ve gastrointestinal bulguların (kusma ve ishal) şekillenmesidir (31, 32).

3. Seçici immüsupresifler

3.1. Kalsinörin inhibitörleri

Norveç'te bulunan bir toprak mantarı türü olan *Tolypocladium inflatum*'dan siklosporin elde edilmektedir. Takrolimus, Japonya'da bulunmuş filament bir bakteri olan *Streptomyces tsukubaensis*'den elde edilmiş kedi ve köpeklerde deneysel amaçla kullanılan, bir makrolid antibiyotik türüdür. Bu bileşiklerin her ikisi de kalsinörin inhibitörüdür ve hücre içi protein ailesi üyelerine, immünofilinlere bağlanır ve lenfositlerdeki sinyal yollarına

müdahale eden kompleksler oluştururlar (33). Siklosporin, interlökin-2 (IL-2) gibi sitokinlerin üretimini azaltarak T lenfositler üzerine inhibitör etkilerini göstermektedir. Siklosporin köpeklerde atopik dermatitis, sebaceöz adenit, pemfigus foliaceus, anal frunkulozis, YBH, myasteni gravis, etiyojisi belli olmayan megingoensefalomiyelitis ve organ nakillerinde kullanılmaktadır (34). Siklosporin, kedi ve köpeklerde organ reddini önlemenin yanında otoimmün kan hastalıkları, sistemik lupus eritematozis, anal frunkulozis, kedilerin eozinofilik granüloma kompleksi ve atopik dermatitisinin tedavisinde kullanılmaktadır (15). Steffan ve ark. (35) köpeklerde siklosporinin günde bir kez 5 mg/kg dozda 4-6 hafta süreyle kullanılmasından sonra atopik dermatitis semptomlarında %40 oranında bir azalma ve pruritis semptomlarında da en az %30 oranında bir azalışın şekillendiğini belirtmişlerdir. Takrolimus, insanlarda doku nakillerinde en çok tercih edilen immüsupresif ilaçlar arasındadır (36). Takrolimusun alloantijen, mitojen kaynaklı lenfosit proliferasyonunu ve IL-2 üretimini inhibe etme özelliğinin kedilerde siklosporinden 5-8 kat daha güçlü olduğu bilinmektedir (37). Yoğun bilateral eozinofilik keratit hastalığı olan bir kedide triamsinolon ve takrolimusun kombine kullanımının etkisiyle tedavinin 38. gününde semptomların neredeyse tamamen düzeldiği bildirilmiştir. Bu iki kombinasyonun eozinofilik keratistide oldukça etkili olduğu sonucuna varılmıştır (38). Siklosporinin kedi ve köpeklerde oral kullanımından sonra görülen en belirgin yan etki hafif bir gastrointestinal sistem bulgularıdır (kusma ve ishal). Bazı durumlarda yan etkilerin daha yoğun görüldüğü bildirilmiştir. Bunlar gingival hiperplazi, fırsatçı enfeksiyonlarda artış, hepatotoksisite ve lenfoproliferatif hastalıkların oluşmasıdır (39).

3.2. Rapamisin inhibitörü

Yeni bir makrolid immüsupresif olan rapamisin, doku nakil sonrası immüsupresyon ve otoimmün hastalığın tedavisi için giderek daha fazla kullanılmakta olan bir ilaçtır (40). Göğüs kanseri üzerine yapılan bir çalışmada rapamisinin antibakteriyel aktivite, antifungal ve immüsupresif etki gibi birçok özelliği ortaya çıkarılmıştır. Rapamisin antijen kaynaklı T ve B lenfosit çoğalmasını ve antikor oluşumunu inhibe etmektedir (41). Urfer ve ark. (42) 24 adet orta yaşlı sağlıklı köpek üzerinde rapamisinin immüsupresif olmayan dozunun kısa süreli etkisini araştırdıkları bir çalışmada klinik bulgularda herhangi bir anormalliğin şekillenmediğini, yaşa bağlı kalp fonksiyonlarının ölçülmesinden sonra (E/A oranı, ejeksiyon fraksiyon ve fraksiyonel kısalma) hem sistolik hem de diyastolik kalp fonksiyonlarında iyileşme şekillendiğini belirtmişlerdir. Böbrek nakli yapılan insanlarda rapamisinin yan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (43) dislipidemi, kan total kolesterol ve trigliserid konsantrasyonlarında artış, hemogloblin, trombosit ve lökosit sayılarında düşüş şekillenmesiyle sitopeni bulgularının şekillendiği

bildirilmiştir. Proteinüri, pnömonitis, periferel ödem, artralji, ishal, deride döküntüler, oral ülserasyonların şekillendiği de belirtilmiştir.

3.3. İnosin monofosfat dehidrojenaz inhibitörü

Mikofenolat mofetil, diğer immünsupresif ilaçlardan daha fazla B lenfositlerin antikor üretimini engelleyen ve lenfositler için göreceli olarak seçici bir immünsupresif ajandır (44). İmmunglobulin A (IgA) temelli çeşitli glomerular hastalıklarda proteinüriyi azaltmada etkili olabileceği ileri sürülmüştür (45). Aktive olan lenfositlerde bulunup dinlenme halindeki lenfositlerde bulunmayan inositol monofosfat dehidrojenazı tercihen durdurduğu için aktive olmuş lenfositlerde seçici olarak rol üstlenmektedir. Bu durum guanozin monofosfat üretiminin azalmasına neden olur ve DNA'nın sentezi önlenir. Mikofenolat mofetil bu yüzden hem T hem de B lenfositlerin çoğalmasını, T lenfosit farklılaşmasını, antikor oluşumunu ve dendritik hücre olgunlaşmasını engeller (5). Mikofenolat mofetil, veteriner hekimliğinde myasteni gravis, aplastik anemi, immün hemolitik anemi ve deri hastalıkları (pemfigus vulgaris ve pemfigus foliaceus), YBH, glomerulonefritis, immün trombositopeni ve immün artrit, nekrotize ensefalitis gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (46). Yuki ve ark. (47) mikofenolat mofetilin köpeklerde aplastik anemide sağaltım amacıyla kullanıldığını rapor etmişlerdir. Bir kedide idopatik immün aracılı poliartritisin tedavisinde mikofenolat mofetilin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada tedavide 10 mg/kg dozunda mikofenolat mofetilin oldukça etkili olduğu, hiçbir yan etkinin oluşmadığı ve genel durumu düzelttiği bildirilmiştir (48). Köpeklerde oral yolla mikofenolat mofetil kullanımıyla başlıca görülen yan etki ishal ve canlı ağırlık kaybıdır (49).

3.4. Leflunomid

Leflunomid, romatizmal artritiste kullanım için onaylanmış bir immünsupresandır (50). Bilinen diğer immünsupresif ilaçlara göre farklı yapısal ve fonksiyonel immünsupresif etkileri olan leflunomid önemli bir biçimde T ve B lenfosit çoğalmasını inhibe etmektedir (51). 4 mg/kg dozda leflunomidin köpeklerde sistemik histiyositozisin kutanöz ve nazal formları, immün trombositopeni, IMHA ve Evans sendromu, multifokal nonsuppuratif ensefalitis, meningomyelitis, immün polimiyozitis, poliartritis ve kaşıntılı deri hastalıkları gibi hastalıklarda etkili olduğu görülmüştür (52, 53). Colopy ve ark. (54) poliartritisli köpeklerde tedavide lenflunomidin kullanımının güvenli ve kortikosteroidlere alternatif bir tedavi olarak etkili olduğunu belirtmişlerdir. Leflunomidin yüksek konsantrasyonda kullanılması, sitokin ve büyüme faktörü reseptörüne bağlı tirozin kinaz aktivitesini inhibe etmektedir (55). Leflunomid öncelikli olarak geleneksel tedavilere dirençli durumlarda veya glikokortikoidlerin kullanımının kontraendike olduğu durumlarda kullanılmaktadır (56). Leflunomidin,

immünsupresif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (57) ratlarda deri nakli sonrası oluşan reddi engellediği bildirilmiştir, yine ratlarda yapılan çalışmalarda (58, 59) bağırsak ve kalp nakli işlemlerinden sonra doku reddini önlediği ifade edilmiştir. Köpeklerde günde 4 mg/kg doz veya daha yüksek dozlarda leflunomidin kullanılmasıyla miyelosupresyonun şekillenebileceği bildirilmiştir (60).

3.5. Lenfosit deplezyon tedavisi

Antilenfosit serum uygulaması hem hücresel hem de humoral immün reaksiyonları baskılayabilir fakat hücresel immün sistem üzerinde daha fazla baskılayıcı özelliği vardır. İmmünsupresyon için bir türün bireylerinden alınan lenfositler antiserum üretilene kadar çeşitli dozlarda diğer türlerdeki hayvanlara enjekte edilir. Bu antiserumlar donör türlerde immünsupresyon oluşturmak için kullanılır. Ancak bu antiserumların kullanılması çeşitli yan etkiler oluşturabilmektedir. Bunlar; akut alerjik reaksiyonlar, eritrositlerin lizisi ve böbrek glomeruluslarında proteinlerin depolanmasıdır (61). Hartner ve ark. (62) köpeklerde siklosporin ve antilenfosit serumun böbrek nakli sonrası doku uyumu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında siklosporinin antilenfosit serum kadar doku reddinde etkili olmadığını belirtmişlerdir.

3.6. İntravenöz immunglobulin (Ig) tedavisi

İntravenöz Ig tedavisi sağlıklı insan plazmasından yüksek oranda saflaştırılmış Ig'lerin uygulanmasıdır. İnsan intravenöz Ig tedavisi biyolojik olarak aktif immunglobulin G ve iz miktarda da IgA, IgM, CD4⁺, sitotoksik T hücreleri ve insan lökosit antijen molekülünü içermektedir (63). İntravenöz Ig tedavisi dermatomyozit/ polimiyozit ve juvenile romatizmal artritisi içeren birçok romatizmal hastalığın tedavisi için sitotoksik ilaçlara alternatif olarak kullanılan bir tedavidir. İntravenöz Ig tedavisinin etki mekanizması T lenfosit supresyonunda artışın ve azalmış antikor sentezinin şekillenmesinden ibarettir (64). Veteriner hekimlikte Ig tedavisi immün aracılı hemolitik anemi, trombositopeni, immün aracılı kutanöz hastalıklar ve edinilmiş retinal dejeneratif sendrom hastalıklarında kullanım alanına sahiptir (65-68). Ramos ve ark. (69) iştahsızlık, durgunluk ve eroziv dermatitis şikayetiyle 12 yaşlı bir köpekte yaptıkları deri biyopsisi sonucu eritema multiforme major teşhisi koymuş ve çoklu immünsupresif tedaviye başlamışlardır. Ancak tedaviye yanıt alınmadığından dolayı 0.45 mg/kg dozda intravenöz Ig tedavisi eklenmiş ve iki gün içerisinde iştahın yerine geldiği ve deri lezyonlarının düzelmeye başladığını gözlemlenmişlerdir. Deri lezyonlarındaki tam olarak düzelmenin ise yaklaşık 1 ayda şekillendiğini belirtmişlerdir. Bir köpekte trimetoprim-sülfadiazin kullanımından sonra şekillenen Stevens Johnson Sendromu'nun tek doz intravenöz Ig tedavisinden sonra tamamen düzeldiği rapor edilmiştir (70). Kedi ve köpeklerde

insan intravenöz Ig kullanımıyla görülen en önemli yan etki yabancı bir protein verildiğinden dolayı akut aşırı duyarlılık reaksiyonlarının şekillenebileceği olarak gösterilmektedir. Hasta kedi ve köpeklerde intravenöz Ig kullanımıyla ilişkili önemli bir yan etki ise belirtilmemiştir (68).

4. Sonuç

İmmünespresif tedavi veteriner hekimlikte immün aracı hastalıklar ve organ nakil işlemlerinde kullanım alanına sahiptir. İmmünespresif ilaçlar tek başlarına kullanılabilir gibi diğer immünespresif ilaçlarla da kombine bir şekilde kullanılabilir. Kullanılan immünespresif ilacın etkinliğinin oluşması ne kadar önemliyse ilaç tarafından oluşturulan immünespresyon sonucu şekillenebilecek sekonder enfeksiyonların riski de bir o kadar önem arz etmektedir. Dolayısıyla immünespresif ilaçların kullanım alanı içerisinde kullanılması ve hastanın sık aralıklarla gözlenmesi gerekmektedir. Kullanılan immünespresif ilacın yan etkileri görüldüğünde ilaç kullanımının ya sonlandırılması ya da doz yönetiminin gözden geçirilmesi gerektiği kanaati oluşmaktadır.

Kaynaklar

- Chinen J, Finkelman F, Shearer WT. Advances in basic and clinical immunology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2006; 118: 489-495. doi: 10.1016/j.jaci.2006.05.021.
- Chatzinasiou E, Chaintoutis SC, Dovas CI, Papanastassopoulou M, Papadopoulos O. Immunosuppression in sheep induced by cyclophosphamide, bluetongue virus and their combination: Effect on clinical reaction and viremia. *Microb Pathogenesis* 2017; 104: 318-327. doi: 10.1016/j.micpath.2017.01.048.
- Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V. Immunosuppressants: A Review. *The Pharma Innovation* 2012; 1: 90.
- Saroj P, Verma M, Jha KK, Pal M. An overview on immunomodulation. *Journal of Advanced Scientific Research* 2012; 3: 7-12.
- Tizard IR. *Veterinary Immunology*. Ninth Edition. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013; p. 468-473.
- Mauch P, Constine L, Greenberger J, Knospe W, Sullivan J, et al. Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 1995; 31: 1319-1339. doi: 10.1016/0360-3016(94)00430-S.
- Schwarz A, Noordegraaf M, Maeda A, Torii K, Clausen BE, et al. Langerhans cells are required for UVR-induced immunosuppression. *Journal of Investigative Dermatology* 2010; 130: 1419-1427. doi: 10.1038/jid.2009.429.
- Rana S, Rogers LJ, Halliday GM. Systemic low-dose UVB inhibits CD8 T cells and skin inflammation by alternative and novel mechanisms. *American Journal of Pathology* 2011; 178: 2783-2791. doi: doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.02.016.
- Giuliano A, Dobson J. Clinical response and survival time of cats with carcinoma of the nasal cavity treated with palliative coarse fractionated radiotherapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2020; 22: 922-927. doi: 10.1177/1098612X19893445.
- Moore AS. Radiation therapy for the treatment of tumours in small companion animals. *The Veterinary Journal* 2002; 164: 176-187. doi: 10.1053/tvj.2002.0728.
- Marino IR, Doyle HR. Conventional immunosuppressive drugs. Thomson AW, Starzl TE, Arnold E. eds. In: *Immunosuppressive Drugs: Developments in Anti-Rejection Therapy*. London: Hodder Education Publisher; 1994. pp.1-256.
- Spoelhof B, Ray SD. Corticosteroids. *Encyclopedia of Toxicology* 2014; 1:1038-1042. doi: doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00293-1.
- Barshes NR, Goodpastor SE, Goss JA. Pharmacologic immunosuppression. *Frontiers in Bioscience* 2004; 9: 411-420. doi: 10.2741/1249.
- Bavaresco I, Bernardi A, Battastini AMO. Glucocorticoids: Classic uses in the treatment of cancer. *Infarma* 2005; 17: 58-60.
- Viviano KR. Update on immunosuppressive therapies for dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2013; 43: 1149-1170. doi: 10.1016/j.cvsm.2013.04.009.
- Foreman M, Cherubini GB. Dexamethasone can be safely and effectively used for treatment of masticatory muscle myositis in dogs. *Topics in Companion Animal Medicine* 2021; 44: 100538. doi: 10.1016/j.tcam.2021.100538.
- Boston SE, Moens NM, Kruth SA, Southorn EP. Endoscopic evaluation of the gastroduodenal mucosa to determine the safety of short-term concurrent administration of meloxicam and dexamethasone in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research* 2003; 64: 1369-1375. doi: 10.2460/ajvr.2003.64.1369.
- Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2009; 6: 638-647. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.146.
- Singh KP, Gupta RK, Shau H, Ray PK. Effect of ASTA-Z 7575 (INN Maphosphamide) on human lymphokine-activated killer cell induction. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 1993; 15: 525-538. doi: 10.3109/08923979309019729.
- Cunha SCS, Silva FB, Corgozinho KB, Silva KVG, Ferreira AMR. Retrospective study of adverse events of chemotherapy in cats. *Acta Scientiae Veterinariae* 2018; 46: 1520. doi: 10.22456/1679-9216.81801.
- Kim C, Wouda RM, Borrego J, Chon E. Cyclophosphamide rescue therapy for relapsed low-grade alimentary lymphoma after chlorambucil treatment in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2021; 23: 976-986. doi: 10.1177/1098612X21996498.
- Matus RE. Chemotherapy of lymphoma and leukemia. Kirk RW. eds. In: *Current Veterinary Therapy X*. Philadelphia, PA USA: W.B. Saunders Company, 1989; pp. 482-488.
- Gorman NT, Werner LL. Immune-mediated diseases of the dog and cat. IV. Therapy and immunodiagnosis. *British Veterinary Journal* 1986; 142: 498-505. doi: 10.1016/0007-1935(86)90106-5.
- Lisowska M, Milczarek M, Ciekot J, Kutkowska J, Hildebrand W et al. An antibody specific for the dog leukocyte antigen DR (DLA-DR) and its novel methotrexate conjugate inhibit the growth of canine B cell lymphoma. *Cancers (Basel)* 2019; 11: 1438. doi: 10.3390/cancers11101438.
- Yuki M, Sugimoto N, Takahashi K, Otsuka H, Nishii N, et al. A case of protein-losing enteropathy treated with methotrexate in a dog. *Journal of Veterinary Medical Science* 2006; 68: 397-399. doi: 10.1292/jvms.68.397.
- Schiavo AL, Puca RV, Ruocco V, Ruocco E. Adjuvant drugs in autoimmune bullous diseases, efficacy versus safety: Facts and controversies. *Clinics in Dermatology* 2010; 28: 337-343. doi: 10.1016/j.clindermatol.2009.06.018.
- Beale KM. Azathioprine for treatment of immune-mediated diseases of dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1988; 192: 1316-1318.
- Gregory CR. Immunosuppressive agents. Bonagura JD, Twedt DC. eds. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV*. St Louis: Saunders Co, 2009; pp. 254-259.

29. Koch SN. Principles of therapy of dermatologic diseases. Bruyette DS. eds. In: *Clinical Small Animal Internal Medicine*. USA: John Wiley & Sons, Inc, 2020; pp. 1397-1402.
30. Piek CJ, Junius G, Dekker A, Schrauwen E, Slappendel RJ, et al. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: treatment outcome and prognostic factors in 149 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008; 22: 366-373. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0060.x.
31. Houston DM, Taylor JA. Acute pancreatitis and bone marrow suppression in a dog given azathioprine. *Canadian Veterinary Journal* 1991; 32: 496-497.
32. Schwab M, Schaffeler E, Marx C, Fischer C, Lang T, et al. Azathioprine therapy and adverse drug reactions in patients with inflammatory bowel disease: impact of thiopurine S-methyltransferase polymorphism. *Pharmacogenetics and Genomics* 2002; 12: 429-436. doi: 10.1097/00008571-200208000-00003.
33. Moore CP. Immunomodulating agents. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2004; 34: 725-737. doi: 10.1016/j.cvsm.2004.01.002.
34. Archer TM, Boothe DM, Langston VC, Fellman CL, Lunsford KV, et al. Oral cyclosporine treatment in dogs: a review of the literature. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2014; 28: 1-20. doi: 10.1111/jvim.12265.
35. Steffan J, Favrot C, Mueller R. A systematic review and metaanalysis of the efficacy and safety of cyclosporine for the treatment of atopic dermatitis in dogs. *Veterinary Dermatology* 2006; 17: 3-16. doi: 10.1111/j.1365-3164.2005.00491.x.
36. Rath T. Tacrolimus in transplant rejection. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2013; 14: 115-122. doi: 10.1517/14656566.2013.751374.
37. Kyles AE, Gregory CR, Craigmill AL. Comparison of the in vitro antiproliferative effects of five immunosuppressive drugs on lymphocytes in whole blood from cats. *American Journal of Veterinary Research* 2000; 61: 906-909. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.906.
38. Romaneck AK, Sebbag L. Case Report: Clinical Remission in a cat with severe bilateral eosinophilic keratitis receiving combined immunosuppressive therapy (Triamcinolone Acetonide and Tacrolimus). *Frontiers in Veterinary Science* 2021; 8: 580396. doi: 10.3389/fvets.2021.580396.
39. Robson D. Review of the pharmacokinetics, interactions and adverse reactions of cyclosporine in people, dogs and cats. *Veterinary Record* 2003; 152: 739-748. doi: 10.1136/vr.152.24.739.
40. Yoshizaki A, Yanaba K, Yoshizaki A, Iwata Y, Komura K, et al. Treatment with rapamycin prevents fibrosis in tight-skin and bleomycin-induced mouse models of systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatism* 2010; 62: 2476-2487. doi: 10.1002/art.27498.
41. Seto B. Rapamycin and mTOR: a serendipitous discovery and implications for breast cancer. *Clinical and Translational Medicine* 2012; 1: 29. doi: 10.1186/2001-1326-1-29.
42. Urfer SR, Kaerberlein TL, Mailheau S, Bergman PJ, Creevy KE, et al. A randomized controlled trial to establish effects of short-term rapamycin treatment in 24 middle-aged companion dogs. *Geroscience* 2017; 39: 117-127. doi: 10.1007/s11357-017-9972-z.
43. Verhave J, Boucher A, Dandavino R, Collette S, Senecal L, et al. The incidence, management, and evolution of rapamycin-related side effects in kidney transplant recipients. *Clinical Transplantation* 2014; 28: 616-622. doi: 10.1111/ctr.12361.
45. Allison AC, Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clinical Transplantation* 1996; 10: 77-84.
46. Choi MJ, Eustace JA, Gimenez LF, Atta MG, Scheel PJ, et al. Mycophenolate mofetil treatment for primary glomerular diseases. *Kidney International* 2002; 61: 1098-1114. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00214.x.
47. Guzera M, Winnicka A. Mycophenolate mofetil-a new immunosuppressive agent in veterinary medicine. *Życie Weterynaryjne* 2011; 86: 800-803.
48. Yuki M, Sugimoto N, Otsuka H, Tanahashi S, Katoh M, et al. Recovery of a dog from aplastic anaemia after treatment with mycophenolate mofetil. *Australian Veterinary Journal* 2007; 85: 495-497. doi: 10.1111/j.1751-0813.2007.00201.x.
49. Tamura Y, Nagamoto T, Segawa K, Neo S, Igarashi H, et al. Successful treatment and long-term follow up of idiopathic immune-mediated polyarthritis with mycophenolate mofetil in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports* 2020; 6: 2055116920963995. doi: 10.1177/2055116920963995.
50. Chanda SM, Sellin JH, Torres CM, Yee JP. Comparative gastrointestinal effects of mycophenolate mofetil capsules and enteric-coated tablets of sodium-mycophenolic acid in beagle dogs. *Transplantation Proceedings* 2002; 34: 3387-3392. doi: 10.1016/s0041-1345(02)03601-1.
51. Wu JK, Harris MT. Use of leflunomide in the treatment of polyomavirus BK-associated nephropathy. *Annals of Pharmacotherapy* 2008; 42: 1679-1685. doi: 10.1345/aph.1L180.
52. Laan RF, van Riel PL, van de Putte LB. Leflunomide and methotrexate. *Current Opinion in Rheumatology* 2001; 13: 159-163. doi: 10.1097/00002281-200105000-00002.
53. Affolter VK, Moore PF. Canine cutaneous and systemic histiocytosis: reactive histiocytosis of dermal dendritic cells. *The American Journal of Dermatopathology* 2000; 22: 40-48. doi: 10.1097/00000372-200002000-00009.
54. Gregory CR, Stewart A, Sturges B, DeManville T, Cannon A et al. Leflunomide effectively treats naturally occurring immune-mediated and inflammatory diseases of dogs that are unresponsive to conventional therapy. *Transplantation Proceedings* 1998; 30: 4143-4148. doi: 10.1016/s0041-1345(98)01373-6.
55. Colopy SA, Baker TA, Muir P. Efficacy of leflunomide for treatment of immune-mediated polyarthritis in dogs: 14 cases (2006-2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2010; 236: 312-318. doi: 10.2460/javma.236.3.312.
56. Gregory CR, Silva HT, Patz JD, Morris RE. Comparative effects of malanonitrolamide analogs of leflunomide on whole blood lymphocyte stimulation in humans, rhesus macaques, cats, dogs and rats. *Transplantation Proceedings* 1998; 30: 1047-1048. doi: 10.1016/s0041-1345(98)00145-6.
57. Bianco D, Hardy RM. Treatment of Evans' syndrome with human intravenous immunoglobulin and leflunomide in a diabetic dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2009; 45: 147-150. doi: 10.5326/0450147.
58. Kuchle CC, Thoenes GH, Langer KH, Schorlemmer HU, Bartlett RR et al. Prevention of kidney and skin graft rejection in rats by leflunomide, a new immunomodulating agent. *Transplantation proceedings* 1991; 23: 1083-1086.
59. He G, McAlister VC, Lee TD, Bitter-Suermann H, Theal M, et al. Oral leflunomide prevents small bowel allograft rejection in the rat. *Transplantation proceedings* 1994; 26: 1613.
60. Williams JW, Xiao F, Foster P, Clardy C, McChesney L, et al. Leflunomide in experimental transplantation. Control of rejection and alloantibody production, reversal of acute rejection, and interaction with cyclosporine. *Transplantation* 1994; 57: 1223-1231.
61. McChesney LP, Xiao F, Sankary HN, Foster PF, Sharma S, et al. An evaluation of leflunomide in the canine renal transplantation model. *Transplantation* 1994; 57: 1717-1722.

62. James K. Anti-lymphocyte serum. *Clinica Chimica Acta* 1968; 22: 101-113. doi: 10.1016/0009-8981(68)90254-4.
63. Hartner WC, Markees TG, De Fazio SR, Khouri W, Maki T, et al. The effect of antilymphocyte serum, fractionated donor bone marrow, and cyclosporine on renal allograft survival in mongrel dogs. *Transplantation* 1991; 52: 784-789. doi: 10.1097/00007890-199111000-00005.
64. Kazatchkine MD, Kaveri SV. Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *New England Journal of Medicine* 2001; 345: 747-755. doi: 10.1056/NEJMra993360.
65. Trentham DE. Novel immunomodulating and immunotherapies, and novel therapies and strategies for inflammatory arthropathy. *Current Opinion in Rheumatology* 1992; 4: 322-324. doi: 10.1097/00002281-199206000-00006.
66. Whelan MF, O'Toole TE, Chan DL, Rozanski EA, deLaforcade AM et al. Use of human immunoglobulin in addition to glucocorticoids for the initial treatment of dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2009; 19: 158-164. doi: 10.1111/j.1476-4431.2009.00403.x.
67. Bianco D, Armstrong PJ, Washabau RJ. Treatment of severe immune-mediated thrombocytopenia with human IV immunoglobulin in 5 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2007; 21: 694-699. doi: 10.1892/0891-6640(2007)21[694:tositw]2.0.co;2.
68. Rahilly LJ, Keating JH, O'Toole TE. The Use of intravenous human immunoglobulin in treatment of severe pemphigus foliaceus in a dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2006; 20: 1483-1486. doi: 10.1892/0891-6640(2006)20[1483:tuoihi]2.0.co;2.
69. Grozdanic SD, Harper MM, Kecova H. Antibody-mediated retinopathies in canine patients: mechanism, diagnosis, and treatment modalities. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2008; 38: 361-387, vii. doi: 10.1016/j.cvsm.2007.12.003.
70. Ramos SJ, Beale VM, Langohr IM, Woodward MC. Erythema multiforme major in a dog treated with intravenous human immunoglobulin and immunosuppressive therapy. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2020; 56: 133-138. doi: 10.5326/JAAHA-MS-6896.
71. Nuttall TJ, Malham T. Successful intravenous human immunoglobulin treatment of drug-induced Stevens-Johnson syndrome in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 2004; 45: 357-361. doi: 10.1111/j.1748-5827.2004.tb00248.x.



Hayvanlarda Kullanılan Bazı İmmünstimülanların Genel Özellikleri ve Farklı Hayvan Türlerinde Yapılan Çalışmalar

 Ömer AYDIN¹,  Mustafa Sinan AKTAŞ¹

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 24.10.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 11.11.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Aydın O, Aktaş MS. Hayvanlarda Kullanılan Bazı İmmünstimülanların Genel Özellikleri ve Farklı Hayvan Türlerinde Yapılan Çalışmalar. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):108-114.

Özet: İmmünstimülanlar çeşitli bakteriyel ve viral hastalıklara karşı hayvanların immun sistemini uyaran maddelerdir. Antijene karşı spesifik olmayan bir biçimde bağışıklık sistemini uyarmaktadır. İmmünstimülanlar bakteriyel ürünler, kompleks karbonhidratlar, aşılarda, immun sistemi uyaran ilaçlar, nutrisyonel faktörler, hayvansal ve bitkisel ekstratlar ve sitokinler olarak sınıflandırılmaktadır. Hastalıklara karşı direnci artırmak için tek başlarına kullanılabildikleri gibi hastalığın türene özgü olarak antibakteriyel, antiviral ya da antiparaziter ilaçlarla birlikte de kullanılabilmektedirler. Bu derlemede hayvanlarda kullanılan bazı immünstimülanların genel özellikleri ve farklı hayvan türlerindeki çalışmalarından bahsedilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: İmmünstimülatör ilaçlar, İmmün sistem, İmmünsistem aktivasyonu, İmmünoterapi

General Characteristics of Some Immune Stimulants Used in Animals and Studies in Different Animal Species

Abstract: Immunostimulants are substances that stimulate the immune system of animals against various bacterial and viral diseases. It stimulates the immune system non-specifically against the antigen. Immunostimulants are classified as bacterial products, complex carbohydrates, vaccines, immune system stimulating drugs, nutritional factors, animal and herbal extracts and cytokines. They can be used alone to increase resistance to diseases, as well as in combination with antibacterial, antiviral or antiparasitic drugs specific to the type of disease. In this review, it is aimed to talk about the general properties of some immunostimulants used in animals and studies in different animal species.

Keywords: Immunostimulatory drugs, Immune system, Immune system activation, Immunotherapy

1. Giriş

İmmünstimülanlar çeşitli bakteriyel ve viral hastalıklar karşısında hayvanların savunma sistemini güçlendiren bileşenler olmakla birlikte antijene spesifik olmadan bağışıklık sistemini uyarırlar (1). Veteriner hekimlik alanında koruyucu yöntemlere artan bir şekilde ilgi gösterilmektedir. Nonspesifik immünstimülanların enfeksiyöz hastalıklardan aşılara olan immün cevabı artırmaya kadar etkili bir koruma sağladığı görülmüştür (2). İmmünstimülanlar immün sistemi uyarak çeşitli enfeksiyonlar karşısında vücut direncini artırabilirler. Bu ajanlar nötrofillerin oksidatif aktivitesini, fagositlerin yabancı projenlere karşı fagositozis özelliğini artırabilirler ve ayrıca savunma amacıyla sitotoksik hücreleri uyabilirler (3). İmmünstimülanlar bakteriyel ürünler, kompleks karbonhidratlar, aşılarda, immünsistemi uyaran ilaçlar, nutrisyonel faktörler, hayvansal ekstratlar, sitokinler ve bitkisel ekstratlar olarak birçok sınıfa ayrılırlar (4). Bu derlemede hayvanlarda en fazla kullanım alanına sahip olan immünstimülan bileşiklerinin özelliğinden ve farklı hayvan

türlerindeki kullanım alanlarından bahsedilmesi amaçlanmıştır.

2. Vitamin C

Vitamin C (Askorbik asit, Vit-C) tüm memelilerde antioksidan olarak en fazla kullanılan ve muhtemelen en önemli suda çözünen vitamindir (5). Vit-C seviyesi enfeksiyöz hastalıklarda iştah ve özellikle protein alımı azalması nedeniyle düşer. Bunun sonucu olarak immün sistem baskılanır (6).

İmmün fonksiyon çeşitli şekillerde Vit-C tarafından etkilenir. Vit-C oksidatif tepkimeler ile ilişkili serbest radikaller tarafından şekillenen oksidatif stres karşısında nötrofilleri korur, (7) lökositlerin kemotaktik cevabını (8) ve viral saldırılar karşısında hücreleri koruyan interferon üretimini uyarır (9). Vit-C'nin antienflamatuar etkilerinin olduğu, bu etkilerini de makrofajlar tarafından üretilen, dokuları yıkımlayan, makrofaj ve nötrofilleri yangı bölgesine çeken reaktif oksijen türlerini ortamdaki temizleyerek gösterdiği bildirilmektedir (10). Pardue ve ark.

(11) bir steroid türevi olan hidrokortizonun etkilerini inhibe etmek için tavuklar üzerinde yapılan bir çalışmada yeme 1000 mg Vit-C ilavesinin hidrokortizonun immünsistemi baskılayıcı özelliğini azalttığını belirlemişlerdir. Rizk ve ark. (12) generalize demodikozisli köpeklerin tedavisinde ivermektin ve ivermektin ile birlikte Vit-C'nin etkisini araştırdıkları bir çalışmada sadece ivermektin uygulanan gruba göre ivermektin ile birlikte kombine Vit-C uygulanan gruptaki köpeklerde daha düşük sayıda demodeks etkenleri ve hemogram bulgularında da daha düşük eozinofil sayılarının elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucundan ivermektin ile birlikte Vit-C kullanımının demodeks etkenleri karşısında daha iyi sonuç verdiği sonucuna varılmıştır. Sığırlarda subklinik ve klinik mastitiste askorbik asit tedavisinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada sadece meme içi antibiyotik (Ampisilin sodyum 75 mg + kloksasilin sodyum) uygulanan gruba göre meme içi antibiyotikle birlikte deri altı yolla 5 gün süreyle 25 mg/kg dozda askorbik asit uygulanan grupta iyileşme oranının daha hızlı olduğu belirtilmiştir. Subklinik mastitis için oluşturulan protokolde de 25 mg/kg dozda deri altı yolla 5 gün süreyle askorbik asit uygulaması yapılan grupla herhangi bir tedavi almayan grup karşılaştırıldığında askorbik asit tedavisi alan grupta %83.3 oranında iyileşme oranı görülürken tedavi edilmeyen grupta ise iyileşmenin şekillenmediği bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda da askorbik asitin daha az sayıda meme içi antibiyotik kullanımına neden olabileceği ve daha hızlı bir iyileşme sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (13).

3. Vitamin D

Kalıtıl ve edinsel immün sistemde rol oynayan makrofajlar, dendritik hücreler, T ve B lenfositler vitamin D (Vit-D) reseptörlerine sahiptirler. Ayrıca bu hücreler kendileri Vit-D'yi üretebildikleri gibi 1,25 dihidroksivitamin D uyarımına da cevap vermektedirler (14).

Vit-D dendritik hücrelerde olgunlaşma, farklılaşma ve göçü sağlar, yardımcı T1 lenfosit (Th1) hücrelerinde aktivasyonu baskılar, düzenleyici T hücrelerini uyarır, myeloid ve akyuvar hücrelerini aktive eder. Tüm bunlar Vit-D'nin önemli bir immünmodulator olduğunu ve enfeksiyonlar karşısında şekillenen bazı süreçleri kontrol ettiğini göstermektedir (15). 1,25 dihidroksivitamin D'nin antiproliferatif olduğu, interferon gama (IFN- γ) ve interlökin-2 (IL-2) üretimini engellediği, interlökin-4, interlökin-5 ve interlökin-10 (IL-10) üretimini arttırdığı ve immünglobulin (Ig) sentezini uyardığı belirlenmiştir (16). *Escherichia coli* (*E. coli*) J5 aşısına karşı serum immünglobulin G (IgG) ve immünglobulin G1 antikorlarının, sadece aşı alan sığırlarla karşılaştırıldığında 1,25 dihidroksivitamin D'nin ilavesi ile önemli ölçüde arttığı görülmüş, 1,25 dihidroksivitamin D'nin *E. coli* J5 aşısı gibi aşılara karşı humoral cevabı artırmada potansiyel olarak yararlı olduğu ve aşılardan koruyucu özelliğini ileri düzeyde

artırabileceği ileri sürülmüştür (17). Sepsisli ve yoğun bakıma alınmış köpeklerde serum Vit-D konsantrasyonunun sağlıklı köpeklerle karşılaştırıldığı bir çalışmada hasta olan köpeklerde önemli bir oranda kan Vit-D düzeyinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda da kritik olarak hasta olan köpeklerde sağ kalma durumunu belirlemek için Vit-D konsantrasyon düzeyinin belirlenmesinin prognostik açıdan önemli olduğu sonucuna varılmıştır (18). Erdogan ve ark. (19) kanin leishmaniasisli köpeklerde koagülasyon profili ve Vit-D düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında leishmaniasisli köpeklerde Vit-D seviyesinin önemli bir oranda düştüğünü ifade etmişlerdir.

4. Vitamin E

Antioksidan bir vitamin olan vitamin E (Vit-E) diğer bir adıyla α -tokoferol olarak isimlendirilmektedir. Tokoferol dört farklı formda (alfa, beta, gama, delta) bulunmaktadır ancak α -tokoferol biyolojik olarak en aktif formudur (20). Vit-E reaktif oksijen ve lipid hidroperoksitleri etkili bir şekilde nötralize eden yağda çözünen bir vitamindir (21). Vit-E'nin bu özelliği sayesinde yangısal ve alerjik hastalıklarda yararlı sonuçlar verebileceği ifade edilmiştir (22). Vit-E'nin etkisiyle makrofajların fagositik aktivitesi artmakta ve prostaglandin E2'nin sentezi ise azalmaktadır. Makrofajların uyarılmasıyla interlökin-1 (IL-1), IL-2 ve T lenfosit proliferasyonunun artması sonucu immün sistem aktive olmaktadır (23). Afzal ve ark. (24) *Brusella abortus* ve Clostridial toksoid bir aşı ile birlikte adjuvant olarak Vit-E verilen koyunlarda sadece aşı uygulanan koyunlara göre daha fazla koruyuculuğun sağlandığını rapor etmişlerdir. *Taenia hydatigena* etkenine karşı aşılardan köpeklerde immün cevap üzerine yapılan bir araştırmada en iyi immün yanıtın Vit-E ve selenyum kombinasyonu olan grupta elde edildiği bildirilmiştir. Vit-E uygulanan köpeklerde kontrol ve uygulama yapılmayan gruptaki köpeklere göre daha yüksek bir koruma ve IgG konsantrasyonunun elde edildiği ifade edilmiştir (25). Tavuklar üzerinde Vit-E'nin büyüme performansı, et kalitesi ve bağışıklık sistemi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Vit-E'nin etkisiyle total Ig seviyelerinin arttığı ifade edilmiştir (26). DL- α -tokoferol asetat ile tedavi edilmeyen ve 125, 250 ve 500 IU tokoferol asetat ile takviye edilen buzağılarda *Pasteurella multocida* aşısı uygulandıktan sonra buzağılardan immün cevabının araştırıldığı çalışmada yüksek konsantrasyonda Vit-E uygulanan gruplarda aşya karşı humoral immün cevabın daha yüksek olduğu belirtilmiştir (27).

5. Selenyum

Glutasyon peroksidaz enziminin gerekli bir bileşeni olan selenyumun antioksidan sistemde önemli rolü bulunmaktadır (28). Selenyum eksikliğinde hem IgG hem de T lenfosit fonksiyonları bozulabileceği için hayvanların hastalıklara karşı direnci azalmaktadır (29). Beyaz kas

hastalığı denilen (musküler distrofi) hastalık selenyum ve vit-E eksikliğine sahip olan doğumdan itibaren 3 aylık yaş aralığındaki buzağular, kuzular, oğlak ve civcivlerde görülebilmektedir (30). Selenyum eksikliğinde T lenfositlerin hücre membranları lipid yapıları içerdiği için B lenfositlere göre daha fazla oksidatif strese etkilenmeye eğilimlidir (29). Selenyum takviyesi yapılan ve destekleme tedavisi yapılmayan ineklerden doğan buzağular üzerinde yapılan bir çalışmada deneysel enfeksiyon modeli olarak *Pasteurella hemolytica* uygulanmasından sonra *Pasteurella hemolytica* titresinin yeterli bir şekilde selenyum alan ineklerden doğan buzağularda daha düşük seyrettiği belirtilmiştir (31). Keçilerde pasif immünite üzerine selenyumun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hem keçilerde hem de yavrularında IgG değerleri açısından anlamlı bir farklılık oluşmamıştır. Ancak bu çalışmada selenyum takviyesi yapılan keçilerden doğan yavrularda kontrol grubundaki keçilerden doğan yavrulara göre total lökosit, nötrofil ve lenfosit sayılarının doğum zamanı ve 1 haftalık yaşta daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda da yavru keçilerde selenyumun 1 haftalık yaşa kadar bağışıklık sistemini uyardığını, ancak yetişkin keçiler üzerinde ise immünite üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (32).

6. Vitamin A ve beta Karoten

beta Karoten (β karoten) Vitamin A (Vit-A)'nın öncül formudur. β karotenin immün fonksiyonları etkileyebildiği gösterilmiştir (33). Vit-A eksikliğine sahip hayvanlarda paraziter enfestasyonlar, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar karşısında duyarlılığın arttığı belirtilmiştir (34). Karotinoidler fagositozis durumunda üretilen oksidatif hasardan nötrofil ve makrofajları koruyarak nonspesifik immün fonksiyonlarda önemli bir rol oynarlar (35). Korbontetraklorür (CCl₄) verilen ratlarda karotinoidlerin antioksidan, karaciğer koruyucu ve immünstimülan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karoten verilen grupta karaciğer enzim seviyelerinin (GGT, ALT, AST) önemli bir oranda düştüğü, IgG seviyelerinin ise yükseldiği bildirilmiştir. CCl₄ verilen gruptaki ratların histopatolojik incelemesinde karaciğerde yangısal infiltrasyon, nekrozis ve fibrozis şekillenmişken karoten takviyesi yapılmış ratlarda ise histopatolojik bulguların daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır (36). Michal ve ark. (37) tarafından periparturient dönemdeki sütçü sığırlarda kan ve meme dokusu lökosit fonksiyonları, retensiyon sekondunaryum ve metritis üzerine β karotenin etkisinin araştırıldığı çalışmada buzağılama döneminden 4 hafta önce β karoten alan grupta kontrol grubuna göre daha düşük retensiyon ve metritis oranının şekillendiği belirtilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada β karoten alan grupta nötrofillerin fagositik aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir. Gonobiyotik domuzlar üzerinde insan rotavirüsün deneysel

olarak verilmesi sonucunda edinilmiş T ve B lenfosit cevabı üzerine Vit-A'nın etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Vit-A seviyeleri yeterli olan domuzlar ile karşılaştırıldığında Vit-A eksikliğine sahip domuzlarda daha yüksek interferon-alfa ve interleükin-12 (IL-12), daha düşük IL-10 seviyelerine sahip oldukları belirtilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada Vit-A eksikliğine sahip domuzlarda daha yüksek bir ishal skorlaması, daha düşük immünglobulin A (IgA) ve IgG seviyelerinin şekillendiği bildirilmiştir (38).

7. Ekinezya

Echinacea purpurea papatyagiller ailesine ait bir bitki türüdür ve onun immünstimülan özelliğinden dolayı dünya çapında bolca kullanılmaktadır. Tek başına ya da diğer immünstimülan bileşiklerle birlikte soğuk algınlığı, öksürük, bronşitis, üst solunum yolu enfeksiyonları, kronik viral hastalıkların tedavisi, deri hastalıkları ve immünsistem disfonksiyonlarında geniş bir kullanım alanına sahiptir (39). Ekinezyanın antiinflamatuvar özelliğinin yanısıra doğal öldürücü hücreler ve makrofajlar tarafından sitokin sentezini artırıcı etkisi bulunmaktadır. Ekinezyanın B lenfosit cevabı ve nötrofil aktivitesi üzerine artırıcı bir özelliği bulunmaktadır (40). Ismael ve ark. (41) şap aşısı sonrası antikör cevabı üzerine ekinezyanın etkisini araştırdıkları çalışmada aşı ile birlikte ekinezya uygulanan grupta sadece aşı uygulanan gruba göre daha yüksek antikör titresinin şekillendiğini belirtmişlerdir. Kanin parvovirüs (CPV) ve kanin distemper virüse (CDV) karşı aşılınmış köpekler üzerinde bu hastalık etkenlerine karşı koruyuculuğu artırmak için *Echinacea Purpurea*'nın etkisinin araştırıldığı çalışmada 21 gün süre için çeşitli dozlarda (0.1 g/kg, 0.2 g/kg, 0.4 g/kg ve 0.8 g/kg) *Echinacea Purpurea* uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda 0.8 g/kg dozda *Echinacea purpurea* alan grupta aşıya karşı en yüksek antikör titresinin şekillendiği, CPV ve CDV virüsüne karşı immün sistemi artırmada *Echinacea Purpurea*'nın immünstimülan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (42). Ziraibi ırkı keçilerde *Echinacea purpurea* ekstratının meme sağlığı ve immün sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada günde 1 kez 2 hafta süreyle oral yolla *Echinacea purpurea*'nın verilmesi sonucunda meme sağlığının korunduğu, süt veriminin arttığı ve immün sistemin aktive olduğu bildirilmiştir (43).

8. Çinko

Çinkonun (Zn) immünmodülatör özelliği ilk kez Brazão ve ark. (44) tarafından Zn'nin hücre proliferasyonu, DNA metabolizması ve onarımı, oksidatif koruma ve hücre sel sinyaldeki rolü belirlenerek gösterilmiştir. Zn eksikliği ile lökositlerin fagositik aktivitesi azalmakta ve T lenfosit ilişkili hücre sel immün cevap bozulmaktadır (45). Abdullah ve Başbuğan koyunlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada şap aşısıyla birlikte çinko verilen grupta IgG, immünglobulin M (IgM), IgA ve immünglobulin E seviyelerinin yükseldiğini

bildirmişlerdir (46). Koyunlarda Ig'ler üzerine enterotoksemi aşısıyla birlikte Zn ve farklı immünstimulanların etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Zn'nin etkisiyle IgG seviyesinin arttığı bildirilmiştir. Bu araştırmanın sonucunda enterotoksemi aşısıyla birlikte Zn'nin kullanılmasının humoral immün sistemi aktive etmesi sonucunda IgG düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (47). McFadden ve ark. (48) kanin atopik dermatitisli köpeklerde çinko içeren takviyelerle birlikte glikokortikoid veya siklosporin gibi allerji tedavisinin uygulandığı köpeklerle çinko takviyesi yapılmamış köpekler karşılaştırıldığında çinko tedavisi alanlarda klinik bulguların daha hızlı bir şekilde iyileştiğini bildirmişlerdir.

9. Levamizol

Levamizol (LMS), Thienpont ve ark. (49) tarafından sentetik bir antihelmintik olan tetramizolün levorotatör formu olarak ilk kez tanımlanmıştır. LMS immünmodulator, antikanserijen ilaçları destekleme, deri hastalıklarının tedavisi ve hayvanlarda kilo almayı sağladığı için birçok alanda kullanılmıştır (50). LMS, hücre temelli immün tepkiye neden olmakta, normal ve deprese olmuş immün sistemleri uyarmaktadır. Bu nedenle, LMS hem immüno-regulator hem de immünstimulan olarak tanımlanmaktadır (51).

Bir hipoteze göre immünmodulator olarak LMS'nin etki şeklinin tip 1 sitokinlerin ortaya çıkması aracılığıyla hücre temelli immün sistemin artırılmasıdır (52). Undiandeye ve ark. (53) Küçük Ruminant Vebası (PPR) aşısı uygulanan keçilere aşı ile birlikte LMS uygulamasının immün sistem üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada sadece aşı uygulanan hayvanlara kıyasla aşı ile birlikte LMS uygulanan keçilerde daha uzun bir immünite sağlandığı sonucuna varmışlardır. Mandalarda şap hastalığına karşı LMS'nin immünstimulan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada şap aşısı uygulanmadan 1 hafta önce LMS uygulanan grup ile karşılaştırıldığında şap aşısı ile eş zamanlı olarak LMS uygulanan grupta daha yüksek antikor titresinin elde edildiği gösterilmiştir (54). Koyunlar üzerinde çeşitli immünstimulanların etkisinin araştırdığı bir tez çalışmasında PPR aşısıyla birlikte 5 mg/kg dozda 4 gün süreyle LMS'nin uygulanmasıyla hem IgG hem de IgM değerlerinde anlamlı farklılıkların şekillendiği belirtilmiş ve LMS'nin belirtilen dozda immün sistemi aktive edebileceği ifade edilmiştir (55).

10. İnaktif *Parapoxvirus ovis*

Orf hastalığı genellikle tehlikesiz ve kendini sınırlandıran, başlıca hem koyun ve keçileri hem de çeşitli ruminantları ve memelileri etkileyen dünya çapında en fazla yayılım gösteren viral hastalıklardan birisidir. Hastalık etkeni olan orf virüsü, sporadik olarak diğer türlerde de çapraz enfeksiyon kabiliyetinde olan, zoonotik karaktere sahip parapoxvirus genusunun bir üyesidir (56).

İnaktif *Parapoxvirus ovis* (iPPVO) akut ve kronik viral enfeksiyonlu hayvanlarda antiviral aktivite gösterir. Orf virüsünün koruyucu etkileri, IL-12, interlökin-18 ve IFN- γ 'nin salınımı sonucuyla Th1 ile biten bağışıklık tepkisinin uyarılması olarak tanımlanmaktadır (57). Horohov ve ark. (58) üç doz iPPVO ile tedavi edilen atlarda ilk dozun uygulanmasından 24 saat sonra interferon ekspresyonunda bir artış şekillendiğini ve daha sonra ise düşüş yaşandığını, iPPVO'nun in vitro interferon üretimini uyardığını ve daha sonra artan sitokin ekspresyonun iPPVO'nun immünmodulator aktivitesinden dolayı şekillendiğini belirtmişlerdir.

Turk ve ark. (59) sığır papillomatizi üzerinde yaptıkları bir çalışmada otojen bir aşı ile birlikte iPPVO kullanımının daha erken bir şekilde papillom lezyonlarını azalttığını ifade etmişlerdir. Ons ve ark. (60) tarafından atlarda *Streptococcus equi* ve *Herpesvirus tip 1* karşısında iPPVO'nun immünmodulator aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında iPPVO uygulanan grupta klinik olarak hastalık bulgularının daha hızlı bir şekilde iyileştiğini ve immünmodulator olarak iPPVO kullanımının güvenli olduğunu ifade etmişlerdir. Pekmezci ve ark. (61) tarafından kanin generalize demodikozisin tedavisinde iPPVO ile birlikte amitrazın etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada sadece amitraz uygulanan gruba göre lenfosit sayılarının iPPVO+ amitraz uygulanan grupta daha yüksek olduğu diğer hemogram verilerinde iki grup arasında anlamlı bir farklılığın oluşmadığı belirtilmiştir. C-Reaktif Protein ve Serum amiloid A değerlerinin iPPVO+ amitraz uygulanan grupta daha düşük olduğu ve iyileşmenin daha erken bir dönemde başladığı ifade edilmiştir. Feline lösemili kediler üzerinde iPPVO'nun etkinliğinin araştırıldığı çalışmada ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılığın oluşmadığı ve iyileşme oranında herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (62).

11. *Corynebacterium cutis* lizatı

Corynebacterium cutis lizatı (CCL) makrofajlar tarafından sindirildikten sonra, sitokin sentezi tetiklenir. Sitokin saçılımını takiben lenfokin sentezi lenfositlerin aktivasyonu tarafından teşvik edilir (63). CCL'nin uygulanması makrofajlar tarafından tümör nekrozis faktör alfa, IL-1 ve interlökin-6'nın sekresyonunu uyarmaktadır ve sekonder lenfosit fonksiyonlarını etkileyerek lenfokin, IL-2 ve IFN- γ salınımına neden olarak immün sistem aktive olmaktadır (64).

Koyunlar üzerinde yapılan bir çalışmada PPR aşısı ile birlikte CCL uygulanmasının sitokinlerde önemli değişimlere neden olabileceği ve PPR aşısının etkisini güçlendirebileceği belirtilmiştir (65). Subklinik mastitisli sığırlarda CCL'nin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada mikrobiyel büyüme oranı ve somatik hücre sayılarının

artmasına rağmen sütteki IgG düzeyinde uygulama sonrası önemli oranda arttığı ifade edilmiştir. Ayrıca çalışmada subklinik mastitiste destekleyici tedavi olarak CCL kullanımının önerilebileceği sonucuna varılmıştır (66). Buzağı ishallerine karşı aşılama gebe düvelerde CCL'nin kolostrum IgG düzeylerine etkisinin araştırıldığı tez çalışmasında 1. grup kontrol grubu, 2. grup inaktif rota, corona ve enteropatojenik *E. coli*'nin 3 serovarını içeren trivalan bir aşının (Kolibin RC Neo®, Interhas-Türkiye) uygulandığı grup, 3. grup ise bu aşı ile birlikte CCL (Ultra-corn® Inj. Susp. Virbac-Fransa) uygulaması yapılan grup olarak ayrılmıştır. Aşıyla birlikte CCL uygulanan grupta hem serum IgG düzeylerinin hem de kolostumdaki IgG düzeylerinin grup 1 ve 2'ye göre daha yüksek seviyelerde seyrettiği rapor edilmiştir (67).

12. Sonuç

Veteriner hekimlik alanında özellikle bakteriyel hastalıklara karşı direncin şekillenmesi ve viral hastalıklar karşısında da antiviral ilaçların bazı yan etkilerinden dolayı immün sistem aktivatörlerinin kullanımı kaçınılmaz bir durumdur. İmmünstimulanlar immün sistemi daha çok spesifik olmayan bir şekilde artırmalarına rağmen tedavinin etkisini artırdıklarından ve ayrıca hastalığın süresini kısalttıklarından dolayı veteriner hekimlik alanında önemli bir rol üstlenmektedirler. Veteriner hekimlikte aşılarla birlikte kullanılabilirler gibi antibiyotik, antiviral ya da antiparazit bir ajanın yanında kombine tedavi şeklinde de kullanılabilirler. Veteriner hekimlik alanında verim ve bağışıklık artırıcı, stres azaltıcı, reproduktif faydaları ve daha birçok özelliğinden yararlanan immünstimulatörlerin kullanım alanı ve bu maddelere karşı olan ilgi her geçen gün daha da fazla artmaktadır.

Kaynaklar

1. Aboughe-Angone S, Nguema-Ona E, Boudjeko T, Driouich A. Plant cell wall polysaccharides: immunomodulators of the immune system and source of natural fibers. *Currents Topics in Phytochemistry* 2012; 1: 1-16.
2. Eid G, Zaghoul WA, Awaad AHH, Bastamy MA, Michael A. Role of *Corynebacterium cutis* as an immune stimulant on the immune response of chickens against fowl pox virus. *Veterinary Medical Journal* 1995; 43: 219-229.
3. Shahbazi S, Bolhassani A. Immunostimulants: Types and Functions. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases* 2016; 4: 45-51.
4. Galeotti M. Some aspects of the application of immunostimulants and a critical review of methods for their evaluation. *Journal of Applied Ichthyology* 1998; 14: 189-199.
5. Padilla L, Matsui T, Ikeda S, Kitagawa M, Yano H. The effect of vitamin C supplementation on plasma concentration and urinary excretion of vitamin C in cattle. *Journal of Animal Science* 2007; 85: 3367-3370. doi: 10.2527/jas.2007-0060.
6. Egbenwiyi TN, Nwaosu SC, Salami HA. Haematological values of apparently healthy sheep and goats as influenced by age and sex in arid zone of Nigeria. *African Journal of Biomedical Research* 2000; 3: 109-115.

7. Wolf G. Uptake of ascorbic acid by human neutrophils. *Nutrition Reviews* 1993; 51: 337-338. doi: 10.1111/j.1753-4887.1993.tb03760.x.
8. Goetzl EJ, Wasserman SI, Gigli I, Austen KF. Enhancement of random migration and chemotactic response of human leukocytes by ascorbic acid. *The Journal of Clinical Investigation* 1974; 53: 813-818. doi: 10.1172/JCI107620.
9. Siegel BV. Enhancement of interferon production by poly(rI)-poly(rC) in mouse cell cultures by ascorbic acid. *Nature* 1975; 254: 531-532. doi: 10.1038/254531a0.
10. Bulger EM, Garcia I, Maier RV. Intracellular antioxidant activity is necessary to modulate the macrophage response to endotoxin. *Shock* 2002; 18: 58-63. doi: 10.1097/00024382-200207000-00011.
11. Pardue SL, Thaxton JP. Evidence for amelioration of steroid-mediated immunosuppression by ascorbic acid. *Poultry Science* 1984; 63: 1262-1268. doi: 10.3382/ps.0631262.
12. Rizk MA, Abdalla AA, El-Sayed SAES. Evaluation of Ascorbic Acid in Combination of Ivermectin in Augmentation the Recovery from Juvenile Generalized Demodicosis in Dogs: A Randomized Clinical Trial. *PSM Veterinary Research* 2017; 2: 14-21.
13. Naresh R, Dwivedi SK, Swarup D, Patra RC. Evaluation of Ascorbic Acid Treatment in Clinical and Subclinical Mastitis of Indian Dairy Cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 2002; 15: 905-911.
14. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nature clinical practice Rheumatology* 2008; 4: 404-412. doi: 10.1038/ncprheum0855.
15. Nelson CD, Reinhardt TA, Lippolis JD, Sacco RE, Nonnecke BJ. Vitamin D signaling in the bovine immune system: a model for understanding human vitamin D requirements. *Nutrients* 2012; 4: 181-196. doi: 10.3390/nu4030181.
16. Veldman CM, Cantorna MT, DeLuca HF. Expression of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Receptor in the Immune System. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2000; 374: 334-338. doi: 10.1006/abbi.1999.1605.
17. Reinhardt TA, Stabel JR, Goff JP. 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhances milk antibody titers to *Escherichia coli* J5 vaccine. *Journal of Dairy Science* 1999; 82: 1904-1909. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75425-1.
18. Jaffey JA, Backus RC, McDaniel KM, DeClue AE. Serum vitamin D concentrations in hospitalized critically ill dogs. *PLoS One* 2018; 13: e0194062. doi: 10.1371/journal.pone.0194062.
19. Erdogan H, Ural K, Pasa S. Relationship between mean platelet volume, low-grade systemic coagulation and Vitamin D deficiency in canine visceral leishmaniasis. *Medycyna Weterinarna* 2019; 75:493-496. doi: https://doi.org/10.21521/mw.6252.
20. Rimbach G, Fischer A, Pallauf J, Virgili F. Vitamin E and selenium effects on differential gene expression. In *The antioxidant vitamins C and E. Proceedings of a symposium held at the 2002 World Congress of the Oxygen Club of California*. March, 6-9, 2002; California-USA.
21. Hidirolou N, Cave N, Atwall AS, Farnworth ER, McDowell LR. Comparative vitamin E requirements and metabolism in livestock. *Annales de Recherches Veterinaires* 1992; 23: 337-359.
22. Zingg JM. Vitamin E and mast cells. *Vitamins & Hormones* 2007; 76: 393-418. doi: 10.1016/S0083-6729(07)76015-6.
23. Moriguchi S, Miwa H, Okamura M, Maekawa K, Kishino Y, et al. Vitamin E is an important factor in T cell differentiation in thymus of F344 rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 1993; 39: 451-463. doi: 10.3177/jnsv.39.451.

24. Afzal M, Tengerdy RP, Ellis RP, Kimberling CV, Morris CJ. Protection of rams against epididymitis by a Brucella ovis-vitamin E adjuvant vaccine. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1984; 7: 293-304. doi: 10.1016/0165-2427(84)90087-4.
25. Kandil OM, Abou-Zeina HA. Effect of parenteral vitamin E and selenium supplementation on immune status of dogs vaccinated with subunit and somatic antigens against *Taenia hydatigena*. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 2005; 35: 537-550.
26. Pompeu MA, Cavalcanti LFL, Torala FLB. Effect of vitamin E supplementation on growth performance, meat quality, and immune response of male broiler chickens: a meta-analysis. *Livestock Science* 2018; 208: 5-13. doi: 10.1016/j.livsci.2017.11.021.
27. Samanta AK, Dass RS, Rawat M, Mishra SC, Mehra UR. Effect of dietary vitamin E supplementation on serum α -Tocopherol and immune status of crossbred calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 2006; 19: 500-506.
28. Mustacich D, Powis G. Thioredoxin reductase. *Biochemistry Journal* 2000; 346: 1-8. doi: 10.1042/bj3460001.
29. Arthur JR, McKenzie RC, Beckett GJ. Selenium in the immune system. *The Journal of Nutrition* 2003; 133: 1457S- 1459S. doi: 10.1093/jn/133.5.1457S.
30. Beytut E, Karatas F, Beytut E. Lambs with white muscle disease and selenium content of soil and meadow hay in the region of Kars, Turkey. *Veterinary Journal* 2002; 163: 214-217. doi: 10.1053/tvj.2001.0652.
31. Stabel JR, Spears JW, Brown TT, Brake J. Selenium effects on glutathione peroxidase and the immune response of stressed calves challenged with *Pasteurella hemolytica*. *Journal of Animal Science* 1989; 67:557-564. doi: 10.2527/jas1989.672557x.
32. Kachuee R, Moeini M, Soury M. Effects of organic and inorganic selenium supplementation during late pregnancy on colostrum and serum Se status, performance and passive immunity in Merghoz goats. *Animal Production Science* 2013; 54: 1016-1022. doi: 10.1071/AN13150.
33. Spears JW. Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the Nutrition Society* 2000; 59: 587-594. doi: 10.1017/s0029665100000835.
34. Chew BP. Immune function: relationship of nutrition and disease control. Vitamin A and beta-carotene on host defense. *Journal of Dairy Science* 1987; 70: 2732-2743. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(87)80346-6.
35. Weitberg AB, Weitzman SA, Clark EP, Stossel TP. Effects of antioxidants on oxidant-induced sister chromatid exchange formation. *The Journal of Clinical Investigation* 1985; 75: 1835-1841. doi: 10.1172/JCI111897.
36. Omara EA, Nada SA, Zahran HG. Antioxidant, hepatoprotective and immuno-stimulant effects of nutraceutical compounds from carotenoid origin in rat treated with carbon tetrachloride. *The Egyptian Journal of Hospital Medicin* 2009; 35: 295 - 308.
37. Michal JJ, Heirman LR, Wong TS, Chew BP, Frigg M, et al. Modulatory effects of dietary beta-carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1994; 77: 1408-1421. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77079-X.
38. Chattha KS, Kandasamy S, Vlasova AN, Saif LJ. Vitamin A deficiency impairs adaptive B and T cell responses to a prototype monovalent attenuated human rotavirus vaccine and virulent human rotavirus challenge in a gnotobiotic piglet model. *PLoS One* 2013; 8: e82966. doi: 10.1371/journal.pone.0082966.
39. Cen G, Luo P, Gao Y. Progress in Pharmacological Effects of Echinacea. *Journal Drugs and Clinical* 2010; 25:15-18. (In Chinese)
40. Uluisik D, Keskin E. Effects of ginseng and echinacea on cytokine mRNA expression in rats. *The Scientific World Journal* 2012; 2012: 942025. doi: 10.1100/2012/942025.
41. Ismael AB, El-Nabtity SM, Aly AA. Dramatic improvement in the efficacy of Foot and Mouth disease vaccines by co-administration of echinacea. *Veterinary Medical Journal Giza* 2009; 57: 1.
42. Guan Y, Chen J, Zhou S, Liu C, Guo S, et al. A randomized and controlled study of the effect of Echinacea Purpurea on canine Parvovirus and Distemper virus antibody levels in dogs. *American Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine* 2018; 13: 13-18.
43. Doaa FT, El-Saied UM, Sallam AA, El-Baz AM, Hussein AM. Effect of using Echinacea extract as immuno-stimulating additive on milk yield traits, immunity and udder health of Zaraibi goats. *Egyptian Journal of Sheep and Goat Sciences* 2009; 4: 33-53.
44. Brazao V, Filipin MDV, Santello FH, Azevedo AP, Toldo MPA, et al. Immunomodulatory properties and anti-apoptotic effects of zinc and melatonin in an experimental model of chronic Chagas disease. *Immunobiology* 2015; 220: 626-633. doi: 10.1016/j.imbio.2014.11.018.
45. Rosenkranz E, Maywald M, Hilgers RD, Brieger A, Clamer T, et al. Induction of regulatory T cells in Th1-/Th17-driven experimental autoimmune encephalomyelitis by zinc administration. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2016; 29: 116-123. doi: 10.1016/j.jnutbio.2015.11.010.
46. Abdullah KM, Basbugan Y. The effect of used immunostimulating drugs with FMD vaccine on immunoglobulins in sheep. *Van Veterinary Journal* 2020; 31: 15-21. doi: 10.36483/vanvetj.547457.
47. Rashid BM, Yuksek N. The Effects of Immunostimulants (Zinc, Levamisole, Vitamin AD3E) Use together with Enterotoxaemia vaccine on immunoglobulins in sheep. *Turkish Journal of Veterinary Research* 2019; 3: 57-65.
48. McFadden RA, Heinrich NA, Haarstad AC, Tomlinson DJ. A double-blinded, randomized, controlled, crossover evaluation of a zinc methionine supplement as an adjunctive treatment for canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2017; 28: 569-e138. doi: 10.1111/vde.12466.
49. Thienpont D, Vanparijs OF, Raeymaekers AH, Vandenberg J, Demoen JA, et al. Tetramisole (R 8299), a new, potent broad spectrum anthelmintic. *Nature* 1966; 209: 1084-1086. doi: 10.1038/2091084a0.
50. Chadwick RG, Jain S, Cohen BJ, Scott GM, Thomas HC, et al. Levamisole therapy for HBsAg-positive chronic liver disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1980; 15: 973-978. doi: 10.3109/00365528009181800.
51. Spector S, Munjal I, Schmidt DE. Effects of the immunostimulant, levamisole, on opiate withdrawal and levels of endogenous opiate alkaloids and monoamine neurotransmitters in rat brain. *Neuropsychopharmacology* 1998; 19: 417-427. doi: 10.1016/S0893-133X(98)00034-7.
52. Szeto CC, Gillespie KM, Mathieson PW. Levamisole induces interleukin-18 and shifts type 1/type 2 cytokine balance in the immune response of experimentally malnourished rats. *Immunology* 2000; 100: 217-224. doi: 10.1046/j.1365-2567.2000.00042.x.
53. Undiandeye UJ, Oderinde BS, El-Yuguda A, Baba SS. Immunostimulatory effect of levamisole on the immune response of goats to peste des petits ruminants (PPR) vaccination. *World Journal of Vaccines* 2014; 4: 88-95. doi: 10.4236/wjv.2014.42011.

54. El-shahedy M, Fatah SA, Salem S, Gamal M. Immunostimulant activity of levamisole to polyvalent FMD vaccine in buffaloes. *Suez Canal Veterinary Medical Journal* 2015; 20: 449-461. doi: 10.21608/scvmj.2015.64651.
55. Aydın O. Küçük ruminant vebası (PPR) aşısı uygulanan morkaraman ırkı koyunlarda vitamin C, vitamin D, levamisol, parapoxvirüs ovis ve corynebacterium cutis lizatının immun sistem üzerine etkilerinin araştırılması, Doktora tezi, Atatürk Üniv Sağ Bil Ens, Erzurum 2020; s. 127. (thesis in Turkish with an English abstract).
56. Wang R, Luo S. Orf virus: a new class of immunotherapy drugs. Vlachakis D. eds. In: *Systems Biology*. IntechOpen, 2018; pp.45.
57. Friebe A, Siegling A, Friederichs S, Volk HD, Weber O. Immunomodulatory effects of inactivated parapoxvirus ovis (ORF virus) on human peripheral immune cells: induction of cytokine secretion in monocytes and Th1-like cells. *Journal of Virology* 2004; 78: 9400-9411. doi: 10.1128/JVI.78.17.9400-9411.2004.
58. Horohov DW, Breathnach CC, Sturgill TL, Rashid C, Stiltner JL, et al. In vitro and in vivo modulation of the equine immune response by parapoxvirus ovis. *Equine Veterinary Journal* 2008; 40: 468-472. doi: 10.2746/042516408X322111.
59. Turk N, Župančić Ž, Starešina V, Kovač S, Babić T, et al. Severe bovine papillomatosis: detection of bovine papillomavirus in tumour tissue and efficacy of treatment using autogenous vaccine and paramunity inducer. *Veterinarski Arhiv* 2005; 75:391-397.
60. Ons E, Van Brussel L, Lane S, King V, Cullinane A, et al. Efficacy of a Parapoxvirus ovis-based immunomodulator against equine herpesvirus type 1 and Streptococcus equi equi infections in horses. *Veterinary Microbiology* 2014; 173: 232-240. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.07.015.
61. Pekmezci D, Pekmezci GZ, Guzel M, Cenesiz S, Gurler AT, et al. Efficacy of amitraz plus inactivated parapoxvirus ovis in the treatment of canine generalised demodicosis. *Veterinary Record* 2014; 174: 556. doi: 10.1136/vr.102226.
62. Hartmann K, Block A, Ferk G, Vollmar A, Goldberg M, et al. Treatment of feline leukemia virus-infected cats with paramunity inducer. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1998; 65 :267-275. doi: 10.1016/s0165-2427(98)00161-5.
63. Shalaby MA, Saleh SM, el-Atrash S, Sami AM, el-Sanousi AA et al. Application of Corynebacterium cutis lysate as an immune stimulant in cattle. *Molecular Biotherapy* 1992; 4: 147-150.
64. Yılmaz O, Kasıkcı G. Factors affecting colostrum quality of ewes and immunostimulation. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2013; 37:390-394. doi: 10.3906/vet-1210-33.
65. Dik B, Dik I, Bahçivan E, Avcı O. *Corynebacterium cutis* lysate treatment can increase the efficacies of PPR vaccine. *Journal of Interferon Cytokine Research* 2016; 36: 599-606. doi: 10.1089/jir.2016.0035.
66. Saat N, Yuksel M, Toraman ZA, Risvanli A. The efficiency of Corynebacterium cutis lysate in cows with subclinical mastitis. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences* 2016; 6: 108-110.
67. Calık H. Buzağı ishallerine karşı aşılanan gebe düvelerde corynebacterium cutis lizatı'nın kolostrum immunglobulin G düzeylerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniv Sağ Bil Ens, Kayseri 2016; s. 24. (thesis in Turkish with an English abstract).



Pastırma Mikrobiyatası

Adalet DIŞHAN¹, Hasan YETİM², Zafer GÖNÜLALAN¹

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri/TÜRKİYE

²İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 10.11.2021

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 01.12.2021

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2021

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Dişhan A, Yetim H, Gönülalan Z. Pastırma Mikrobiyatası. Bozok Vet Sci (2021) 2, (2):115-125.

Özet: Pastırma, tuzlu ve kuru işlenmiş, çemenle kaplı, orta nemli gıdalar sınıfında, tüketime hazır geleneksel Türk et ürünlerinden birisidir. Biyotayı ekseriyetle koagülaz negatif stafilocoklar ve laktik asit bakterileri oluşturmaktadır. Pastırmanın imalat ve sonrası işlem aşamalarında mikrobiyotada değişiklikler gerçekleşmektedir. Et mikrobiyal bozulma yönünden dayanıksız bir gıda maddesi olmasına rağmen sağlıklı ve yüksek verim özelliğine sahip hayvanlardan tekniğine uygun olarak elde edilen etlerinin kullanılması başlangıç mikroorganizma sayısının düşük olmasını sağlamaktadır. Üretim ve satış yerlerinde gıda ile temas halinde bulunan personel hijyenine dikkat edildiğinde ve yetersiz ya da yanlış hijyenik uygulamalar ile çapraz kontaminasyonların önüne geçildiğinde mikrobiyal ajanların gıdalara geçişi en az seviyeye indirgenecektir. Kürlenme ve kurutma işlemleri ile su aktivitesi azaltılarak güvenilir ve stabil bir et ürünü elde edilmektedir. Pastırmalık etlerin çemenlenmesi ile çemenin bileşimindeki biyoaktif maddeler bazı patojenlerin gelişimini engellerken, etin yüzeyinde küfün gelişmesini engelleyici bir yapı olarak fonksiyon göstermektedir. Laktik asit bakterilerinin ürettikleri bakteriyosinler, engel teknolojisinin önemli bir bileşeni olarak görülürken aynı zamanda işletmenin çalışma alanlarında biyofilm oluşumunu engelleyici fonksiyonları dolayısı ile dikkat çekmektedir. Kritik kontrol noktalarının etkin çalıştırılması ve üretim hijyeni ile pastırmanın güvenilir olmasının yakın ilişkisi ve pastırmanın doğal biyotasının faydaları göz önüne alındığında, pastırma mikrobiyolojik kalite sorunu olarak halk sağlığı açısından oldukça az endişe oluşturduğu sonucuna varılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Pastırma, Mikrobiyota, Kürlenme, Hijyen, Starter, Engel

Microbiota of Pastırma

Abstract: Pastırma is one of the traditional Turkish meat product that is ready to eat, salted and dried, covered with cemen, and categorized as a medium moisture food. The biota mostly harbour coagulase negative staphylococci and lactic acid bacteria. Changes emerge in the microbiota during the manufacturing and post-processing stages of pastırma. Notwithstanding being a perishable food item of meat, healthy and high yielding animals' meat slaughtered in accordance with technique ensures that initial microbial count is low. The transmission of microbial agents to food will be minimized when attention is paid to the hygiene of personnel in contact with food in production and sales areas, inadequate or erroneous hygienic practices and cross-contaminations are prevented. A reliable and stable meat product is acquired by reducing the water activity via curing and drying processes. The bioactive substances originated from cemen inhibit some pathogens and play role as a structure that prevents the development of mold on the surface of the meat. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria is considered as a crucial hurdle technology member and take attention due to hindering biofilm formation in facility. With regard to the effective operation of critical control points and the close relationship between hygiene and reliability of pastırma, and the benefits of natural biota, pastrami poses less public health concern as a microbiological quality issue.

Keywords: Pastırma, Microbiota, Curing, Hygiene, Starter, Hurdle

1. Giriş

Et; yüksek biyolojik değerlikli zengin protein, esansiyel yağ asitleri, mineraller ve vitaminler gibi yapısal unsurlar ile mikroorganizmaların çoğalmasına ve gelişmesine imkân veren mikroorganizmalar için optimum pH ve su aktivitesi değerlerine sahiptir (1). Bu özelliği dolayısı ile insan beslenmesi için son derece önemli olan etin, güvenilir niteliklere sahip olarak elde edilmesi ve muhafaza edilmesine yönelik teknikler geçmişten günümüze süreklilik arz ederken bilimsel gelişmelere koşullu olarak dinamik bir yapı göstermektedir.

Etin muhafaza özellikleri ve kalite nitelikleri, kimyasal özelliklerine olduğu kadar yapısında bulunan doğal biotadaki, saprofit ve fermentatif mikroorganizmalar arasındaki denge ile yakından ilişkilidir (2). Tüm bu değişkenler et üretimindeki olumsuzluklara bağlı olarak bulunabilecek patojen mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasına da imkân sağlamaktadır (3).

Taze et son derece besleyici ancak çok çabuk bozulabilen bir gıda maddesidir. Günümüzde etin muhafazasında, tuzlama, kürlenme, uygun iklimatik ortamlarda kurutma gibi teknikler yoğun bir biçimde kullanılmaktadır (4). Fermentasyon, etin tüketiciler tarafından güvenilir bir biçimde tüketilmesi için anahtar öneme sahip işleme

tekniklerinden birisidir. Etin, tüketime hazır gıda olarak üretilmesinde, taşıma ve depolama kolaylığı, yüksek besleyici değeri ve kalite niteliklerinin dayanıklı hale getirilmesi pek çok avantajı dolayısı ile fermentasyon et ürünlerinin üretiminde ayrı bir yere sahiptir (4). Günümüzdeki, depolama, taşıma, paketleme imkânlarının olmadığı eski dönemlerde bu teknik ile etlerin uzun süreli muhafaza edilmesi mümkün olabilmıştır. Tarihi kayıtlar milattan önce 2000’li yıllardan beri etlerin kurutulması, fermentasyonu, salamura edilmesi, tuzlanması ve tuzun etin muhafazası amaçlı kullanımının varlığını bildirmektedir (5). Etin muhafaza edilmesi için bilinen en eski yöntemlerden bir tanesi tuzlandıktan sonra güneşte kurutulması olmakla birlikte et ürünlerinin güvenilirliğinin artırılması, kalite niteliklerinin geliştirilmesi için starter kültürlerle olan ilginin de son yıllarda giderek artmakta olduğunu belirtmek gerekmektedir (6).

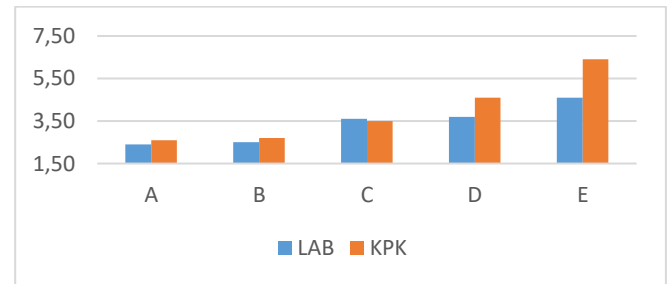
Türkiye ve yakın coğrafyasında sevilerek tüketilen geleneksel bir ürün olan pastırma, tuzlama (kürleme), kurutma ve baskılama aşamalarından sonra etlerin çemenlenmesiyle üretilen bir et ürünüdür (7). Pastırma, üretim teknolojisi gereği orta düzeyde nem içeren gıdalar grubunda yer almaktadır. Bu yönü ile uygun saklama koşullarında aylarca muhafaza etmek mümkündür. Türk Standartları Enstitüsü (TSE) pastırmayı; “Kasaplık büyükbaş hayvan gövde etlerinden usulüne göre ayrılan parçaların teknolojik işlemlerden geçirilerek, izin verilen katkı maddeleri ile hazırlanıp kurutulduktan sonra çemenlenmesi, yeniden kurutulması ile elde edilen kemiksiz et ürünü”, Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği ise; “Büyükbaş hayvan karkaslarından usulüne göre ayrılan parça etlerin teknolojisine uygun olarak kürleme ve yıkama işlemlerinden sonra baskılama ve kurutma işlemlerine tabi tutulup, çemenlendikten sonra yeniden kurutulması ile elde edilen ısı işlem uygulanmamış kürlenmiş ve kurutulmuş et ürünü” şeklinde tanımlamaktadır (8). Pastırma üretiminde geleneksel olarak sığır ve manda etleri kullanılmaktadır (9). Buna ilaveten hindi, tavuk, balık etlerinden pastırma üretilmesinin mümkün olduğu gibi koyun, domuz, at etleri kullanılarak üretilen pastırmalar da bildirilmiştir (10).

Pastırmanın imalat aşamalarında mikrobiyotada önemli değişiklikler gerçekleşmektedir. Pastırma biyotasını ekseriyetle koagülaz negatif stafilocoklar ve laktik asit bakterileri meydana getirmektedir (11). Mikrobiyotanın şekillenmesinde, üretimde kullanılan tuz miktarı başta olmak üzere pH, kurutma sıcaklığı gibi iç ve dış faktörlerin önemli rollerinin olduğu belirtilmektedir (12). Pastırmanın imalatı boyunca etlerin su aktivitesi azalarak son üründe su aktivitesi 0,90 değerinin altına düşmekte ve üründe mikrobiyal stabilite oluşmaktadır (13).

Bir çalışmada deneysel pastırma üretiminin basamakları ile bir et işletmesinde üretilen ticari pastırmaların mikrobiyolojik özelliklerini Tablo 1’de incelenmiştir (14).

Ticari et işletmesinin pastırma üretim basamaklarında incelenen mikroorganizma sayılarının yüksek olduğunu, pastırma üretimi için belirlenen çeşitli kritik kontrol noktalarından aldığı örneklerin analizlerine dayanarak, pastırma üretiminde kullanılan et, çemen yapımında kullanılan hammaddenin (özellikle et, buy otu tohumu unu ve toz kırmızı biber), üretiminde kullanılan ekipman (parçalama kütüğü, baskı makinası, bıçak) ve çalışanların (eller) en önemli kontaminasyon kaynakları olduğunu bildirmiştir. Çalışmada, pastırmanın güvenilir olmasının; üretimde kritik kontrol noktalarının etkin çalıştırılması ve üretim hijyeni ile yakın ilişki içerisinde olduğu sonucu vurgulanmıştır.

Türkiye’de yapılan çalışmalarda pastırmalarda hâkim biyotayı laktik asit bakterileri (LAB), stafilocok ve mikrokokların oluşturduğu bildirilmektedir (15). Kaban, pastırma üretiminin; kürleme öncesi, kürleme sonrası, ilk kurutma sonrası, ikinci kurutma sonrası, son ürün basamaklarındaki fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini incelemiştir (16). Ürünün son pH değeri ($5,86 \pm 0,06$) üzerinden yaptığı değerlendirmede yazar, pastırma üretiminde tam anlamıyla laktik fermentasyonun şekillenmediğini, aslında pastırmanın, laktik fermentasyonun görülmediği Fransız ve İtalyan kuru kürleme ile üretilen jambonlarda ile kuru kürleme uygulanmış İspanyol lacona benzer bir et ürünü olduğunu belirtirken, LAB ve katalaz pozitif kokların (KPK) sayılarında pastırma üretim süreci boyunca artışlar tespit edilmiştir. Üretim süreci boyunca LAB sayılarını log 5 kob/g seviyelerinin altında belirlerken, KPK sayılarının ise log 6 kob/g’den daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Pastırmada hâkim biyotayı Gram (+) katalaz pozitif kokların oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Türkiye’de pastırmaların mikrobiyolojik özelliklerini tanımlamaya yönelik olarak birçok araştırma Tablo 2’de verilmiştir (17-21).



Şekil 1: Pastırma üretimi sürecinde LAB ve KPK sayılarındaki değişim: A; kürleme öncesi, B; kürleme sonrası, C; birinci kurutma sonrası, D; ikinci kurutma sonu, E; son ürün.

1.1. Kürlemenin Mikrobiyolojisi

Pastırma üretiminde kürleme işlemi uygulanmaktadır. Kürleme; tuz ile nitrat, nitrit, sakkaroz, glikoz gibi çeşitli

kimyasal maddelerin karışımından meydana gelmektedir (22). Tuz kullanılmasıyla ürünün su aktivitesi düşmekte, mikrobiyolojik stabilite ve kas proteinlerinin çözünürlüğü artırmakta ve tuz, ürün güvenliğine, tekstürün gelişmesine, aynı zamanda aromaya katkı sağlamaktadır (23). Pastırma üretiminde kürlenme maddesi olarak tuz ile birlikte nitrat kullanılmaktadır (22).

Kürlenmiş et ürünlerinin başlangıç mikrobiotası, etin elde edilme işleminin hijyenik kalitesine bağlı olarak büyük ölçüde değişiklikler göstermekle birlikte, tuz ile diğer kürlenme maddelerinin etkisi ile mikrobiota halotolerant mikroorganizmaların hâkimiyetine girmeye başlamaktadır (5).

Tablo 1: Pastırma Üretim Basamaklarında Mikroorganizma Sayıları (log₁₀ kob/g)

Örnek	Üretim Basamağı	TAMB	Lb.	S-M	Ps.	Koliform	Entb.	Entk.	M-K
Deneysel Pastırma Örnekleri	Et	5,41	3,46	3,59	2,81	1,89	2,86	3,48	4,50
	Tuzlama	4,46	3,03	3,09	2,25	1,67	2,04	2,59	3,71
	Yıkama	5,12	3,25	3,67	3,00	0,68	2,25	2,82	3,96
	Baskılama	4,60	3,07	3,30	2,56	0,96	1,79	2,87	3,48
	Kurutma	3,68	2,63	2,63	<1	<1	1,19	1,54	2,67
Ticari Pastırma Örnekleri	Çemenleme	4,93	3,41	3,86	0,69	0,35	1,40	2,37	<1
	Et	4,99	2,56	2,42	1,46	1,42	2,36	1,81	3,85
	Tuzlama	4,21	1,52	2,44	<1	0,93	1,66	2,83	3,21
	Yıkama	4,71	2,92	3,39	2,20	1,64	3,10	2,50	3,46
	Baskılama	4,80	2,85	3,15	2,22	1,80	2,76	2,47	3,08
	Kurutma	4,13	3,03	2,66	<1	<1	0,59	1,47	3,19
	Çemenleme	5,56	3,77	4,08	0,35	1,15	3,41	2,88	4,14

TAMB; Toplam aerobik mezofilik genel canlı, Lb; Laktobasil, Ps; Pseudomonas, S-M; Stafilokok-Mikrokok, Entb; Enterobakter, Entk; Enterokok, M-K; Maya-Küf

Pastırma dışındaki bazı kürlenmiş et ürünlerinin buzdolabında muhafaza edilmesi, vakum paketlenmesi psikrotrofik özelliklerdeki laktik asit bakterileri, enterokok, mikrokok ve mayaların hâkimiyetine girebilmektedir. Muhafaza süresinin uzamasına ve mikroorganizmaların gelişmesine bağlı olarak ette bozulma belirtileri görülmeye başlamaktadır. Nitrit, oksidatif ransiditenin oluşmasını geciktirmektedir (24).

Pastırma gibi kürlenmiş, asılarak kurutulmuş, baskıya alınmış et ürünlerinde tüm bu aşamaların 10°C'nin altındaki sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi *Salmonella* gibi enterik patojenlerin gelişimini baskılamaktadır (25, 26). Üretimin 3-4 hafta gibi uzun bir süreyi kapsıyor olması, Enterobacteriaceae familyasına ait mikroorganizmaların yıkılanmasına olanak sağlarken, mikrokok, enterokok, laktik asit bakterileri ve kserofilik mayalar gibi mikroorganizmaların gelişmesine dolayısı ile kompleks tat ve aromanın oluşmasına imkân sunmaktadır (7). Pastırma üretiminde kullanılan çiğ etlerde Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerin sayısı 2 log kob/g düzeylerinin altında belirlenirken, üretim süresince tespit edilebilir seviyelerin altına düştükleri belirtilmiştir (15).

Etin iç kısımlarına tuzun yeterince penetre olamaması sonucunda etlerin merkezi bölgelerinde bozulmalar

meydana gelebilmektedir (27). Kürlenmiş etlerde aw ve pH düşüşleri arzulanan süre ve hızda şekillenmez ise üründe enterobakterilerin ve *Clostridium* türlerinin neden olduğu mikrobiyal bozulma belirtileri ortaya çıkmaktadır (28). Bu mikroorganizmalar kürlenme maddeleri etin merkezinde yeterli konsantrasyonlara ulaşmadan önce faaliyetlerini devam ettirmeleri ile ürün kalitesini ve görünümünü olumsuz yönde etkilemektedirler. Kürlenmiş etlerde görülebilen yeşillenmeler, *Shewanella putrefaciens*, Enterobacteriaceae ve *Lactobacillus sake* gibi bakterilerin ürettiği H₂S'in oksimiyoglobini ile reaksiyona girmesi sonucunda sülfhemoglobin oluşumunun şekillendiğini göstermektedir (29). *Staphylococcus xylosus* taze etlerde in vitro ortamlarda metmiyoglobini nitrozomiyoglobine dönüştürme kabiliyetindedir (30).

Etin mikrobiyotası, özellikle LAB ve koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), tuzlama, kürlenme ve kurutma gibi işlemlerden büyük ölçüde etkilenmektedirler (31). Kürlenmiş et ürünlerinde KPK'ların, LAB'lere göre daha yüksek lipolitik ve proteolitik etkiler geliştirdikleri için son ürünün tekstürü üzerine sergiledikleri etkinin, tat, aroma ve renk gibi özelliklerden daha ön planda olduğu bildirilmektedir.

Tablo 2 : Türkiye'de pastürmaların mikrobiyolojik özelliklerini tanımlamaya yönelik çalışmalar

Çalışma	Şehir	Örnek Sayısı (n)	TAMB	LAB	SM	P	Koliform	Entb.	Entk.	<i>E. coli</i>	MK	KPS	SIA	S	CP	LM	CB
(17)	Konya		7,08		5,89		%36; 34,45				%80 5,08						
(18)	Ankara	80	4-8	4-8	4-7	<2,30	<2,30-3	<2,30-4	<2,30-4		<2,30-5	<1	<1	-			
(19)	Erzurum	48		3,75- 7,89	4,0- 7,45		<1	<1		1,30	<2,00- 5,76			-	44- <1,00		
(20)	Eskişehir	8	2,09- 3,33								1,53- 3,18				1- 1,30 3- 1,48		
(21)	Kayseri Afyon Erzurum Sivas Kahramanmaraş Elâzığ İstanbul	20		3,60- 8,41				<2,00- 5,41	4,76- 5,11		<2,00- 6,60						

TAMB; Toplam aerobik mezofilik bakteri-LAB; laktik asit bakterileri- SM; stafyokok-mikrokok- P; psikrofilik- Entb; enterobakter- Entk; enterokok; MK; maya, küf- KPS; koagülaz pozitif stafyokok- SIA; sülfid indirigeyen anaerob- S; Salmonella spp- CP; Clostridium perfringens-LM; Listeria monocytogenes- CB; Clostridium botulinum

Doğal fermente et ürünlerinde *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus saprophyticus* ve *Staphylococcus xylosus* baskın olarak bulunurken, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus succinus*, *Staphylococcus vitulinus* ve *Staphylococcus warneri* daha düşük düzeylerde varlıklarını sürdürmektedirler. Günümüzde et ürünlerinin imalatında yaygın olarak kullanılan starter kültür mikroorganizmaları *S. carnosus* ve *S. xylosus*'tur (33).

Et ürünleri imalatında kürlenme ajanları olarak nitrat ve/veya nitritin kullanımı eski çağlardan beri bilinmektedir (28). Avrupa Birliği direktiflerine göre, ısıtma işlemi görmüş et ürünlerinde kalıntı nitrit düzeyi 100-150 mg/kg, ısıtma işlemi görmemiş et ürünlerinde ise 150 mg nitrite ilave olarak 150 mg/kg seviyelerinde nitratın bulunmasına izin verilmektedir (34).

Stafilokokların büyük bir kısmı sahip oldukları nitrat redüktaz enzimi ile nitratı, nitrite indirgemektedir. Et ürünlerinde nitrit, nitrik okside (NO) kimyasal indirgenme ile dönüşerek *Clostridium botulinum* ve *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin gelişimini durdurarak mikrobiyal güvenlik sağlamakla birlikte lezzet, tat ve renk gelişimine de katkı sağlamaktadır (28). Fermente et ürünlerinin mikrobiyotasının önemli unsuru olan LAB'leri asidifikasyon; KPK ise renk, lezzet gibi özelliklerin gelişmesi üzerine etkilidir (35).

Nitritin indirgenmesi sonucu oluşan nitrik oksit, myoglobin ile reaksiyona girmekte ve oluşan nitrosomyoglobin (MbFe(II)NO), ürüne pembemsi kırmızı rengini vermektedir (36). Nitrik oksit, nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi sentezleyebilen stafilokok cinsi mikroorganizmalar tarafından arjinin aminoasidinden de üretilmektedir (37). NOS enzim aktivitesi etlerde yaygın olarak bulunan birçok KNS türü ve *S. xylosus*'ta da görülmektedir. NOS benzeri aktiviteyi *Staphylococcus haemolyticus*'ta göstermektedir. NO son derece reaktif bir bileşik olmakla birlikte düşük yoğunluklarda sinyal molekülü olarak görev yapan, yüksek yoğunluklarda nitrozatif strese neden olmakta ve bu özellikleri ile bakterilerin fizyolojileri üzerine etki göstermektedir (30).

Kürlenmiş et ürünü modellerinde *S. xylosus* 24 saat sonunda nitratın %80'den fazlasını indirgeyebilmektedir (38). Kürlenmiş et ürünlerinde sıklıkla izole edilen *S. equorum* ile daha seyrek olarak izole edilen *S. saprophyticus*'ta nitrat redüktaz aktivitesi sergilenmektedir (31).

Fermente et ürünlerinde, pH 5.5 düzeylerine indikten sonra nitrit etin yapısında bulunan suda çözünen bir forma kavuşmakta nitroz asidine (HNO₂) dönüşerek anhidroz yapısı (Nitrojen trioksit, N₂O₃) ile bir denge içerisinde hareket etmektedir. Nitritin bu iki formu, yine ortamda bulunan NO ve nitrojen dioksit (NO₂) ile denge kurmaktadır (24). NO son derece güçlü serbest radikal özelliği gösteren bir gaz olarak biyolojik zarlardan hızla geçebilmekte, DNA,

lipitler ile tiyol grubu ve metal element içeren proteinler ile doğrudan reaksiyona girebileceği gibi çeşitli reaktif nitrojen bileşikleri aracılığı ile de bu fonksiyonları gerçekleştirebilir (39).

Kürlenmiş et ürünlerinde nitrit kullanımının N-nitrozo bileşiklerinin oluşumuna neden olduğu bunun toksisite (oral yolla letal etki için nitratın kilogram vücut ağırlığı başına 80-800 mg, nitritin ise 33-250 mg düzeylerinde alınması gereklidir) ile 1970'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde kızartılmış baconlarda karsinogenik tabiatta olan N-nitrozaminlerin tespit edilmesi ile farklı bir boyuta taşınmıştır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, kürlenmiş et ürünü tüketimi ile, insanlarda görülmekte olan beyin kanseri, çocukluk çağı lösemisi, kolorektal ve özefageal kanserler arasında ilişkinin varlığını bildirmektedir. Ancak bu bilgilere muhalif görüşlerde mevcuttur ki tartışmaların kaynağı bu görüşlerdir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı, 2006 yılında yaptığı değerlendirmeye göre, nitrat ve nitrite sindirim yolu ile maruz kalınmasının endojen nitrozasyona neden olduğu ve insanlar için muhtemel bir karsinogenik etkinin varlığına dikkat çekmiştir. Bazı araştırmacılar da insan tükürük salgısında endojen nitritin varlığına, nitrate maruz kalmada temel faktörlerin sebze ve meyve tüketimi olduğunu bildirmişlerdir. Kürlenmiş ürünlerle gıda katkısı olarak kullanılan nitritin, vücutta meydana gelen nitrojen oksitlerin çok küçük bir kısmından sorumlu olduğu iddia edilmektedir (40).

1.2. Pastırma üretiminde engel oluşturma (hurdle) teknolojisi

Engel teknolojisi, bir koruma stratejisi olarak farklı tekniklerinin birleşimidir. Engel yöntemlerinin birleştirilmesi ile, kalite kaybı en aza indirilirken mikrobiyal büyüme üzerindeki genel etki yüksek kalabilmektedir (41). Kürlenme ve kurutma işlemleri ile su aktivitesi azaltılarak son üründe 0,85-0,90 düzeylerine kadar getirilerek mikrobiyal bakımdan güvenilir ve stabil bir et ürünü elde edilmektedir (42). Pastırma üretiminde su aktivitesi ile birlikte; nitrat, pH, rekabetçi mikrobiyotaya ile sarımsak, kırmızı biber kaynaklı mikrobiyal inhibitörler de istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engelleme üzerine etkilidir (7).

Pastırma üretiminde sağlıklı ve yüksek verim özelliğine sahip hayvanlardan tekniğine uygun olarak elde edilen etlerinin kullanılması başlangıç mikroorganizma sayısının düşük olmasını sağlamaktadır. Etler şaklanarak kürlenme maddelerinin çabuk ve etkin bir biçimde homojen olarak yayılmasına neden olmaktadır (25). Etin su aktivitesi tuzlama, baskılama ve kurutma aşamalarında hızlı bir biçimde düşürülerek, son üründe tuz düzeyi %5,5-6,0, su aktivitesi ise 0,85-0,90 seviyelerine ulaşmaktadır (10). Kürlenme maddesi olarak nitrat istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen önemli bir bariyerdir (24). Pastırmada üretim boyunca et ve çemenin

gramda 10^7 kob düzeylerine çıkan laktik asit bakterileri rekabetçi mikrobiyata olarak ve pH'nın düşmesindeki etkileri ile yine önemli bir engeli meydana getirmektedir (7). Pastırmalık etlerin çemenlenmesi, çemenin bileşiminde bulunan sarımsak ve kırmızı biberdeki biyoaktif maddeler dolayısı ile bazı patojen mikroorganizmaların gelişimini engellerken, etin yüzeyinde küfün gelişmesini engelleyici bir yapı olarak fonksiyon göstermektedir (43, 44).

1.3. Pastırma üretiminde starter kültür kullanımı

Pastırma üretiminde starter kültür olarak genellikle, Gram ve katalaz pozitif koklar ve LAB olarak önerilmektedir (22). Etin fermentasyonu doğal mikrobiota ya da inokülasyon ile kazandırılan mikroorganizmalar tarafından pH'nın düşürülmesi ile ürünün çok avantajlı bir yapıya dönüşmesine yol açmaktadır (45). Fermentasyon, çevresel faktörlerin etkisine son derece açık bir işlemdir. Fermentasyon işleminin başarısı, etlerin, taze, düşük ya da hiç kontamine olmamış özellikte olması, işlemin sanitasyon kurallarına sıkı sıkıya bağlı bir şekilde yürütülmesi, sıcaklık, rutubet, zaman gibi değişkenlerin ve fermentasyonda görev alan mikroorganizmaların kontrol edilebilmesi ile yakın ilişkilidir (46).

Fermente etlerde en önemli kazanım, kas dokusunda doğal olarak bulunan depo glikojen ya da işlem sırasında ilave edilen şekerlerden mikroorganizmaların metabolizması sonucu üretilen ve antimikrobiyal özellikteki laktik asittir. Fermentasyonun en önemli unsuru laktik asit olmakla beraber, tuzlama ve/veya kürlenme, kurutma işlemleri ile ürünün su aktivitesinin düşürülmesi de kritik bir husustur (4). Doğal ve kontrollü fermentasyonlarda *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Aerococcus* ve *Pediococcus* cinsine ait LAB, elzem rol oynamaktadır (47). Bu mikroorganizmaların etlerde gelişime kabiliyeti fermentasyonun başarısını ve ürünün piyasa başarısını belirleyici etkiye sahiptir (45). Günümüzde, starter kültür pazarının hâkimiyeti, metabolik aktiviteleri ve lezzet oluşumuna etkileri dolayısı ile LAB ve/veya mikrokoklardadır (35). Fermente ürünler düşük pH ve aw nitelikleri nedeni ile uzun raf ömrüne sahiptir. Endüstriyel ölçekte üretilen etler dâhil olmak üzere çoğu yüksek kalite standardına sahip ve güvenilir gıda maddelerinin fermente edilmesinde doğal biota yerine starter kültür kullanımı bir gereksinim haline gelmiştir. Et endüstrisinin temel starter kültürünü, homofermantatif LAB ve/veya pediyokoklar ve *Micrococcus* türleri gibi Gram ve katalaz pozitif koklar oluşturmaktadır (32, 35). Ürünlerde laktik asidin hızlı şekillenmesi kalite ve güvenlik hususlarını belirleyici öneme sahiptir.

Ürünün elde edilmesi sırasında istemeyen bazı mikroorganizmaların gelişimi ciddi sorunların oluşması anlamına gelir. *Clostridium*, *Bacillus* cinsine ait bazı saprofit bakteriler ile mezofilik özellikteki bozulma etkenleri,

fermentasyon sürecinde homofermantatif LAB'lerinin düşük düzeyde laktik asit oluşturmaları dolayısı ile gelişme imkânı bulabilmektedir (48).

Etin fermentasyonu, ürünün kalite nitelikleri üzerine etki eden bir dizi fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimi kapsamaktadır. Etin asitleşmesi ve pH'sının azalması kritik bir role sahip olmakla birlikte, diğer önemli hususlar; protein ve yağların hidrolizi, nitratın nitrite indirgenmesi, nitrozomiyoglobulin meydana gelmesi ve dehidrasyondur (49). Laktik asit oluşumu dışındaki sayılan değişimler başlıca endojen ve mikrobiyal enzimlerin hâkimiyetinde cereyan etmektedir (50). Fermente et ürünlerinde lezzet; asit oluşumu ile peptidler ve serbest aminoasitler gibi düşük molekül ağırlığına sahip lezzet unsurları, aldehytler, organik asitler ve aminler gibi proteoliz ürünlerine bağlı olarak meydana gelmektedir (16). Fermente et ürünlerinde aroma oluşumunda; lipit oksidasyon ürünleri, serbest yağ asitleri ve uçucu bileşiklerinin de etkili olduğu bildirilmektedir (51).

Antimikrobiyal özelliğe sahip bazı LAB'leri, gıdaların güvenilirliğinin sağlanması ve muhafaza süresinin uzatılması maksatları ile değerlendirilmektedir. Koruyucu kültürler, besin unsurları için rekabet etmeleri, laktik-asetik asit gibi organik asitleri, düşük molekül ağırlıklı; hidrojen peroksit, karbondioksit, diasetil ve sınıflandırılmamış bazı metabolitleri, yine yüksek molekül ağırlığına sahip bakteriyosinler gibi antimikrobiyal peptidler gibi ürünleri üretmek suretiyle bioatamın diğer üyeleri ile rekabet etmektedir (52). Bakteriyosinler, LAB'leri tarafından üretilen, Gram pozitif mikroorganizmaların gelişimini durduran ya da inhibe eden antimikrobiyel peptidlerdir. Bazı LAB'lerinin ürettikleri bakteriyosinlerin kullanımı hurde teknolojisinin önemli bir bileşeni olarak görülürken aynı zamanda işletmenin çalışma alanlarında biyofilm oluşumunu engelleyici fonksiyonları dolayısı ile de dikkatleri çekmektedir (53).

LAB'lerinin koruyucu kültür olarak kullanılan büyük bir bölümü, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA; Food and Drug Administration) tarafından "Genellikle Emniyetli" olarak (GRAS; Generally Recognized As Safe) değerlendirilmektedir (54). Bu mikroorganizmalar FDA'nın spesifik kullanımlar için güvenli ve insanlar tarafından tüketimi zararsız olarak değerlendirildiği; AB Gıda Güvenliği Otoritesi'nin de (EFSA; European Food Safety Authority) benzer bir yaklaşım sergilediği liste içerisinde yer almaktadır. EFSA, gıda zinciri içerisinde yer alan mikroorganizmalar için güvenliğin nitelikli karinesi (QPS; Qualified Presumption Of Safety) yaklaşımını uygulamaya koymuştur (55).

LAB'leri Gram pozitif, sporsuz, genellikle hareketsiz, karbonhidrat metabolizmalarının en önemli son ürünü olarak laktik asit meydana getiren, fermentasyon yapan çubuk ya da koklardır. Nitriti indirgeyemezler, porfirinoidlerin

yokluğunda katalaz negatif, aero ve asit toleranslıdır (56). Çoğu LAB sitokrom bulundurmaz ancak hem varlığında aerobik solunum yapabilmektedir. LAB'leri gelişmek için; karbonhidrat, yağ asitleri, vitaminler ve aminoasitleri gibi son derece karmaşık bir besin unsurlarına ihtiyaç duymaları dolayısı ile aslında zor üreyen, müşkülpesent mikroorganizmalar olarak bilinmektedir. Taksonomik çalışmalarla LAB'leri 20 cinsi kapsayan (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetratogenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* gibi) bir grubu temsil etmektedir (56).

Türkiye'de pastırma üretiminde *Lactobacillus sakei* + *Staphylococcus xylosus*; *Lactobacillus pentosus* + *Staphylococcus carnosus* ile farklı düzeylerde kürlenme maddelerinin ürün özelliklerine etkilerini araştıran çalışmalar yapılmıştır (57). Starter kültür kullanılan pastırmaların kalıntı nitrat ve nitrit bakımından faydalı etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Manda pastırmalarında starter kültür olarak kullanılan *Staphylococcus carnosus*; *Staphylococcus carnosus* + *Lactobacillus pentosus*'un son ürünün kalite nitelikleri üzerine olumlu etkiler gösterdiği tespit edilmiştir.

1.4. Pastırma üretiminde dumanlama

Dumanlama işlemi et ürünlerinin muhafaza süresinin artırılması esas amacı ile günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Dumanlama işlemi ile ürün muhafaza süresinin uzatılması ile birlikte lezzet, tat, koku, renk gibi özelliklerin geliştirilmesi mümkün olmaktadır. İşlemin dezavantajlı yanı sıra ise karsinogenik tabiatta polisiklik aromatik hidrokarbonların oluşması ve üründe birikmesidir (58).

Gürbüz ve ark. (59), üretimini yaptıkları pastırmalara çemenleme öncesi ve sonrasında ılık (30°C'de) ve sıcak (54°C'de) dumanlama işleminin etkisini incelemişlerdir. Çalışmada incelenen toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, Stafilokok-Mikrokok, Laktobasillus ve maya-küf bakımından çemenleme işlemi öncesi sıcak dumanlama uygulanan örneklerde en düşük sayıların tespit edildiği bildirilmiştir. Örneklerin hiçbirisinde koliform mikroorganizma üremesi gözlemlenmediği belirtilmiştir. Etin yüksek ısıda dumanlanmasının, duman bileşiminde bulunan bileşiklerin inhibitör etkisine bağlı olarak sayısal azalmalara neden olduğu sonucunun altı çizilmiştir.

1.5. Pastırmanın ambalajlanması

Pastırmanın farklı ambalajlama yöntemleri ile muhafaza koşullarında mikrobiyal kalite özelliklerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (7).

Garcia-Esteban ve ark. (60), vakumlu paketlenme ile iki farklı modifiye atmosfer paketlenme işlemi uygulanmış (vakum, %100 N₂; %80 N₂+%20 CO₂ karışımı), kuru kürlenmiş ve

buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen et ürününde (jambon) muhafaza süresince renk, tekstür ve mikrobiyolojik niteliklerindeki değişimleri incelemişlerdir. Sekiz haftalık muhafaza periyodu sonunda, mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre vakum ambalajlama, %100 N₂ ile %80 N₂+%20 CO₂ gaz karışımları ile modifiye paketlenmiş örneklerde mezofil aerob bakteri sayıları sırası ile log 3,97; 3,29; 3,64 kob/g, laktik asit bakteri sayıları tüm gruplar için <log 2; kob/g, maya ve küf sayıları log 2,60; 2,54; 2,54 kob/g olarak tespit edilmiştir. Bütün gruplar için Enterobacteriaceae, Koliform, *E. coli*, sülfid indirgeyen sporlu anaerob, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Campylobacter jejuni*'nin saptanabilir düzeylerin altında olduğu sonucu bildirilmiştir. Sonuç olarak üç farklı tipte uygulanan ambalajlama yöntemleri kıyaslandığında, mikrobiyolojik, bazı fiziksel ve kimyasal özellikler bakımından belirgin bir farklılık bulunmadığı sonucu elde edilmiştir.

1.6. Geleneksel pastırma satışının hijyen sorunu

Et mikrobiyal bozulma yönünden oldukça dayanıksız bir gıda maddesidir. Tüketime hazır et ürünleri, tüketim öncesi herhangi bir işlem uygulanmadan direkt tüketilmek amacıyla üretilmiş et ürünü olarak tanımlanmakta olup pastırma da tüketime hazır gıda maddeleri içerisinde yer almaktadır (61).

Gıda intoksikasyon ve enfeksiyon vakalarından elde edilen çalışma verilerine göre, tüketime hazır et ürünlerinden kaynaklanan hastalıklardan başlıca *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella* spp. *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157 ve O111 bakterilerinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (62). Satış yerlerinde gıda ile temas halinde bulunan personel, yetersiz ya da yanlış hijyen uygulamaları, çapraz kontaminasyonlar neticesinde patojenlerin gıdalara geçişine neden olmaktadır (61). Bakteri transferinin sıklıkla gıda hazırlanması esnasındaki yanlış uygulamalardan kaynaklandığı belirtilmektedir. Özellikle tüketime hazır gıdalara el teması patojenlerin gıda maddelerine girişinde potansiyel bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır (63). Yapılan bir çalışma ile çapraz kontaminasyon olgularının sıklıkla yeterince dekontamine edilmemiş kesim tahtalarından ve yeterince dekontamine edilmeden kullanılan bıçaklardan kaynaklandığı ortaya konmuştur (61).

Gıdaya personel tarafından kontaminasyonu muhtemel olan enterik patojenler genel olarak *E. coli*, *Hepatit A virüsü*, *Salmonella* spp. *Shigella* spp. ve *Clostridium perfringens* olarak rapor edilmekte olup *Yersinia*, *Proteus*, *Campylobacter* ve *Klebsiella* türleri gibi çiğ hayvansal ürünlerden köken alan patojenler çalışanların ellerini sonrasında gıdayı, ekipmanları ve diğer çalışanları da kontamine edebilmektedir. Hayvansal orijinli gıdalarla kontamine *E. coli* O157: H7 ve *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp. ve *Staphylococcus*

aureus olmak üzere bu ajanların Amerika Birleşik Devletleri'nde her sene 3.3-12.3 milyon hastalık vakasına ve 3900 ölüme sebebiyet verdiği bildirilmiştir. Buna ilaveten ekonomik yönden hastalığa ilişkin kayıpların 6.3-35 milyon dolara ulaştığı belirtilmiştir (61, 64).

Açık ortamda satışı yapılan tüketime hazır gıdalardan ve çevrelerinden alınan örneklerin mikrobiyolojik kalitesinin tespitine yönelik bir çalışmada tüketime hazır et ürünlerinin patojenlerle bulaşı durumunun oluşumunu en elzem basamak olarak ürünün dilimlenmesi sırasındaki muamelelerden kaynaklandığı ortaya konmuştur (65). Dilimleme işlemi sonrası ürünün vakum paketli ortama maruz bırakılarak bozulma mikroorganizmalarının üremesinin önlenmesiyle ürünün raf ömrü, buzdolabı koşullarında birkaç haftaya kadar çıkabilmektedir. Buzdolabı ortamı sıcaklığında *Salmonella* spp. gibi patojen mikroorganizmaların üremesi kontrol altına alınabilmesine rağmen psikotrofik *Listeria monocytogenes* gibi organizmaların üremesi inhibe edilememektedir (61). Modifiye atmosfer paketleme yapılan bir çalışma da yaklaşık log 1 kob/g *Listeria monocytogenes* inokülasyonu gerçekleştirilen salam örneklerinde *Listeria monocytogenes* düzeyinin 35 gün içinde log 8 kob/g'a kadar artış gösterdiği ortaya konulmuştur (66).

1.7. Pastırmalarda patojen mikroorganizma sorunu

Salmonella spp., *Listeria monocytogenes* ve *Campylobacter* spp. gibi bazı gıda patojenlerinin et ürünlerine uygulanan fermentasyon, olgunlaştırma ve kurutma gibi işlemlerden sonra varlıklarını sürdürebildikleri bildirilmektedir. Bu patojen mikroorganizmalardan bazılarının kürlenmiş, fermente edilmiş ve kurutulmuş çeşitli pazarlarda satışa sunulan et ürünlerinden izole edildiği de bildirilmiştir (67). Bazı kürlenmiş ve kurutulmuş et ürünlerinin üretim aşamasında deneysel olarak patojen mikroorganizmalar ile kontamine edilerek etkenlerin varlığının araştırıldığı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. *Listeria monocytogenes*, doğada yaygın olarak bulunan, psikrotrofik tabiatla ve NaNO₃ gibi kürlenme işleminin bileşenlerine karşı kısmi direnç gösteren yapısı dolayısıyla ile birincil kontaminasyonlar açısından ön plana çıkan bir gıda kaynaklı patojendir. Diğer patojen mikroorganizmaların daha yaygın olarak ikincil bulaşmalar şeklinde kurutulmuş ve kürlenmiş et ürünlerinde ortaya çıkabileceği düşünülebilmektedir (68).

Büyükünal ve ark. (26), İstanbul, Adapazarı, Afyon ve Kayseri'de bulunan perakende satış yerleri ve üreticilerden topladıkları 66 pastırma numunesinden üç adedinde *Salmonella* spp., iki adedinde ise *Listeria monocytogenes* varlığını tespit ederken örneklerin hiçbirisinde *Escherichia coli* O157 izole edememişlerdir. Reynolds ve ark. (69), deneysel olarak üretilen jambonlarda yüzeysel ve enjeksiyonla derin kısımlara 10⁹ kob/ml düzeyinde *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S.*

aureus etkenlerini içeren inokulumlar ile kontamine etmişlerdir. Kürlenme işlemini takip eden 69. günde *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, ve *S. aureus*' ta sırası ile 5.5, 5.5, 4.0, ve 0.3 log düzeylerinde redüksiyonun gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Jambonların 120. gün aw değeri 0.91'in altında belirlenmiş, 5.5 pH ve %8 tuz konsantrasyonu ile 20°C sıcaklıkta muhafaza edilen jambonların *Staphylococcus* spp. üremesinin ve stafilkokkal enterotoksin üretiminin önlenmesi için yeterli olduğu sonucunu elde etmişlerdir. Rainaldi ve ark. (70), kuru tuzlanmış Bresaola' da *L. monocytogenes*'in depolamanın yedinci gününe kadar varlığını sürdürdüğünü bildirmişlerdir. Huerta ve ark. (71) ise, kuru tuzlama işleminin son basamaklarında koliform grubu mikroorganizmaların büyük ölçüde yıkımlandığı sonucunu elde etmişlerdir.

Pastırma çemen sosu ile kaplanan bir et ürünü olduğu için çemenin patojen mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin araştırıldığı Yetim ve ark. (43)'m yaptığı bir çalışmada, çemenin *E. coli*, *S. aureus* ve *Y. enterocolitica*'nın gelişimi üzerine inhibitörük etki gösterdiğini, antibakteriyel etkinin ortaya çıkmasında çemenin bileşiminde bulunan çemenotu, kırmızı biber ve sarımsağın etkilerine ek olarak yaklaşık 4.83 olan pH değerinin önemli bir hurdle olarak etki gösterdiği belirtilmiştir.

Sığır sistiserokizisinin etkeni *Taenia saginata*'nın larvası olan *Cysticercus bovis*, tüm dünyada yaygınlık gösteren önemli bir zoonotik hastalıktır. Etkeni taşıyan sığır etlerinin değerinin düşmesi ya da imha edilme zorunluluğu dolayısıyla ile ekonomik kayıplar da göz önünde bulundurulmalıdır. Etken, -10°C'de 10-14 gün, -7°C'nin altında 21 günde bekletilen; 60°C'nin üzerinde ısı işleminin tam anlamıyla uygulanan; 95-100°C'de 30 dakika bekletilen; 8-12°C'deki salamura çözeltisinde 21 gün bekletilen etlerde hastalık oluşturma kabiliyetini kaybetmektedir (72). Pastırmalarda *Cysticercus bovis* varlığına ilişkin bir çalışmaya rastlanılmamakla birlikte, bu etken bakımından pastırmaların incelendiği araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Kontrolsüz kesilen ve veteriner hekim muayenesinden geçirilmeyen etler önemli bir halk sağlığı problemidir. Kasaplık hayvan etlerinde bulunabilen bir başka paraziter zoonoz *Toxoplasma gondii*'dir (73). Küresel ölçekte insan popülasyonunun 1/3'ünün bu parazite maruz kaldığı bildirilmiştir. Etken çoğu yetişkinde ciddi bir soruna neden olmazken, gebelik döneminde hastalığa maruz kalan bebeklerde ve bağışık yetmezliği bulunanlarda körlük ve mental geriliğe neden olmaktadır. Jones ve Dubey (74), etkenin Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda sığırlarda yaygın olmadığını bildirmiş olmakla birlikte Türkiye'de Aydın İli'nde yapılan bir çalışmada dişi sığırların %78,8'i, erkek sığırların ise %22,2'si seropozitif olduğu *Toxoplasma gondii*'nin yaygın bulunduğu bildirilmiştir. Herrero ve ark. (75), deneysel olarak üretimini yaptıkları enfekte hayvanların elde edilen jambonlarda

etkenin 12 ay boyunca hastalık oluşturma kabiliyetini koruduğunu ve kürlenme ve kurutma işlemlerinin et ürünlerini *Toxoplasma gondii* bakımından güvenli hale getirmediklerini bildirmişlerdir. Türkiye’de satışı yapılan pastırmalarda *Toxoplasma gondii* mevcudiyeti bakımından çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

2. Sonuç

Geleneksel bir Türk gıdası olan pastırma, benzerlerinden farklı olarak çemen ile kaplanmış, kürlenmiş, kurutulmuş, orta nemli gıda sınıfında yer alan et ürünlerinden birisidir. Pastırma üretimi boyunca kürlenme ve kurutma aşamalarında su aktivitesi azaltılarak son üründe 0,85-0,90 seviyelerine düşürülerek daha güvenilir mikrobiyal ortam içeren bir et ürünü elde edilmektedir. Su aktivitesi faktörüne ek olarak; nitrat, sarımsak, baharat gibi mikrobiyal baskılayıcılar ve pH, kompetitif biyotada istenmeyen mikroorganizmaların gelişimine engel oluşturma konusunda etkilidir.

Pastırmada hâkim biyotayı LAB, stafilokok ve mikrokokların oluşturduğu bildirilmekle birlikte, LAB etin muhafazası ve fermentasyon süreçlerinde önemli bir rol oynamakta ve teknolojik olarak önemli kabul edilmektedir. Laktik asit üretimi ile pH’ı azalmakta ve patojen ya da bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini önlemek için bakteriyosinler üretmektedir. Laktik asit bakterileri, gıda güvenliğine doğal biyokoruyucu ve iyi bir biyoteknolojik alternatif olarak kabul edilmektedir. Böylece hijyenik güvenlik sağanarak, stabilite ve et ürünlerinin raf ömrünü iyileştirebilmektedir. Bununla beraber, LAB'nin proteoliz ve lipoliz aktiviteleri ile pastırmanın aroma, renk ve tekstürel özelliklerine katkıda bulunmaktadır.

Üretimde kritik kontrol noktalarının etkin çalıştırılması ve üretim hijyeni ile pastırmanın güvenilir olması yakın ilişkili olduğu ve pastırmanın doğal biyotasının faydaları göz önüne alındığında, pastırma mikrobiyolojik kalite sorunu olarak halk sağlığı açısından oldukça az endişe oluşturmaktadır. Ancak, proses sonrası kontaminasyon veya dilimleme gibi işlemler ile mikrobiyal risk artabilmektedir. Bu nedenle pastırmaların uygun şekilde paketlenmesi ve raf ömrünü optimize etmek için 4°C’de muhafaza edilmesi tavsiye edilmektedir.

Kaynaklar

- Pereira PMDC, Vicente AFDRB. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science* 2013; 93: 586-592. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.09.018.
- Kołożyn-Krajewska D, Dolatowski ZJ. Probiotics in fermented meat products. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 2009; 8: 61-74.
- Castellano P, Pérez Ibarreche M, Blanco Massani M, Fontana C, Vignolo GM. Strategies for pathogen biocontrol using lactic acid bacteria and their metabolites: a focus on meat ecosystems and industrial environments. *Microorganisms* 2017; 5: 38. doi:10.3390/microorganisms5030038.
- Leroy F, Geyzen A, Janssens M, De Vuyst L, Scholliers P. Meat fermentation at the crossroads of innovation and tradition: a historical outlook. *Trends in Food Science Technology* 2013; 31: 130-137. doi: 10.1016/j.tifs.2013.03.008.
- Toldrá F. The Storage and Preservation of Meat: III-Meat Processing. Toldrá F. ed. In: *Lawrie’s Meat Science*, United Kingdom: Woodhead Publishing, 2017; p. 265-296.
- Talon R, Leroy S. Fermented meat products and the role of starter cultures. Batt CA, Tortorello ML. eds. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Amsterdam: Academic Press, Elsevier Ltd, 2014; p. 870-874.
- Karabıyıklı Ş, Öncül N, Cevahiroğlu H. Microbiological safety of pastrami: a traditional meat product. *LWT-Food Science and Technology* 2015; 64: 1-5. doi:10.1016/j.lwt.2015.05.006.
- Anonim. Pastırma Standardı. Pastırma. Türk Standartları Enstitüsü, 5 Şubat 2002 tarih ve 1071 numaralı standart, Ankara. 2002.
- Kılıç B. Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *LWT-Food Science and Technology* 2009; 42: 1581-1589. doi:10.1016/j.lwt.2009.05.016.
- Mattiello S, Caroprese M, Crovetto GM, Fortina R, Martini A, et al. Typical edible non-dairy animal products in Africa from local animal resources. *Italian Journal of Animal Science* 2018; 17: 202-217. doi:10.1080/1828051X.2017.1348915.
- Diñer E, Kıvanç M. Characterization of lactic acid bacteria from Turkish pastırma. *Annals of Microbiology* 2012; 62: 1155-1163. doi: doi.org/10.1007/s13213-011-0355-x.
- Kaban G. Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Science* 2013; 95: 912-918. doi:10.1016/j.meatsci.2013.03.021.
- Akköse A, Aktaş N. Curing and diffusion coefficient study in pastırma, a Turkish traditional meat product. *Meat Science* 2014; 96: 311-314. doi:10.1016/j.meatsci.2013.07.026.
- İnat G. Pastırma Üretiminde Kontaminasyon Kaynaklarının Belirlenmesi ve İyileştirme Koşullarının Araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008; 27: 53-59.
- Elmalı M, Yaman H, Ulukanlı Z, Tekinsen KK. Microbiological and some chemical features of the pastrami sold in Turkey. *Medycyna Weterynaryjna* 2007; 63: 931.
- Kaban G. Changes in the composition of volatile compounds and in microbiological and physicochemical parameters during pastırma processing. *Meat Science* 2009; 82: 17-23. doi: 10.1016/j.meatsci.2008.11.017.
- Doğruer Y, Gürbüz Ü, Nizamhoğlu M. Konya’da Tüketime Sunulan Pastırmaların Kalitesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi* 1995; 11: 77-81.
- Ozdemir H, Sireli U, Sarımehtemioğlu B. Ankara’da tüketime sunulan pastırmalarda mikrobiyal floranın incelenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 1999; 23: 57-62.
- Aksu Mİ, Kaya M. Some Microbiological, Chemical and Physical Characteristics of Pastırma Marketed in Erzurum. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2001; 25: 319-326.
- Diñer E. Et ve et ürünlerinde laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve bunların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniv Fen Bil Ens, Eskişehir, 2007. (thesis in Turkish with an English abstract).
- Ertekin Ö. Pastırmadan Enterokokların İzolasyonu/İdentifikasyonu ve Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Atatürk Üniv Fen Bil Ens, Erzurum, 2016. (thesis in Turkish with an English abstract).
- Çakıcı N, Aksu Mİ, Erdemir E. A survey of the physico-chemical and microbiological quality of different pastırma types: A dry-cured meat product. *CyTA-Journal of Food* 2015; 13: 196-203. doi:10.1080/19476337.2014.938123.

23. Hastaoglu E, Vural H. New approaches to production of Turkish-type dry-cured meat product "Pastirma": salt reduction and different drying techniques. *Korean journal for food science of animal resources* 2018; 38: 224. doi: 10.5851/2Fkosfa.2018.38.2.224.
24. Honikel KO. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science* 2008; 78: 68-76. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.05.030.
25. Aksu MI, Erdemir E, Çakıcı N. Changes in the physico-chemical and microbial quality during the production of pastırma cured with different levels of sodium nitrite. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 2016; 36: 617. doi: 10.5851/2Fkosfa.2016.36.5.617.
26. Büyükkünel ŞK, Şakar FŞ, Turhan İ, Erginbaş Ç, Sandıkçı Altunalmaz S et al. Presence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 and Nitrate-Nitrite Residue Levels in Turkish Traditional Fermented Meat Products (Sucuk and Pastırma). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016; 22: 233-236. doi:10.9775/kvfd.2015.14238.
27. Gómez I, Janardhanan R, Ibañez FC, Beriain MJ. The Effects of Processing and Preservation Technologies on Meat Quality: Sensory and Nutritional Aspects. *Foods* 2020; 9: 1416. doi: 10.3390/foods9101416.
28. Govari M, Pexara A. Nitrates and Nitrites in meat products. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* 2015; 66: 127-140. doi:10.12681/jhvms.15856.
29. Guerrero-Legarreta I. Spoilage of Cooked Meat and Meat Products. Batt CA, Tortorello ML. eds. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*, London: Academic Press, 2014; p. 508-513.
30. Ras G, Zuliani V, Derkx P, Seibert TM, Leroy S, et al. Evidence for nitric oxide synthase activity in *Staphylococcus xylosum* mediating nitrosoheme formation. *Frontiers in Microbiology* 2017; 8: 598. doi:10.3389/fmicb.2017.00598.
31. Stavropoulou DA, De Maere H, Berardo A, Janssens B, Filippou P et al. Species pervasiveness within the group of coagulase-negative staphylococci associated with meat fermentation is modulated by pH. *Frontiers in Microbiology* 2018; 9: 2232. doi: 10.3389/fmicb.2018.02232.
32. Kaban G, Kaya M. Identification of lactic acid bacteria and Gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (sucuk). *Journal of Food Science* 2008; 73: M385-M388. doi: doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00906.x.
33. Leroy S, Giammarinaro P, Chacornac JP, Lebert I, Talon R. Biodiversity of indigenous *Staphylococci* of Naturally Fermented Dry Sausages and Manufacturing Environments of small scale processing units. *Food Microbiology* 2010; 27: 294-301. doi: 10.1016/j.fm.2009.11.005.
34. EU Commission. Commission Regulation (EU) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives. *Official Journal of the European Union L* 2011; 295: 1-177.
35. Laranjo M, Elias M, Fraqueza MJ. The use of starter cultures in traditional meat products. *Journal of Food Quality* 2017; 9546026. doi:10.1155/2017/9546026.
36. Ras G, Bailly X, Chacornac JP, Zuliani V, Derkx P, et al. Contribution of nitric oxide synthase from coagulase-negative staphylococci to the development of red myoglobin derivatives. *International Journal of Food Microbiology* 2018; 266: 310-316. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.005.
37. Sapp AM, Mogen AB, Almand EA, Rivera FE, Shaw LN, et al. Contribution of the nos-pdt operon to virulence phenotypes in methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*. *PLoS One* 2014; 9: e108868. doi:10.1371/journal.pone.0108868.
38. Vermassen A, de la Foye A, Loux V, Talon R, Leroy S. Transcriptomic analysis of *Staphylococcus xylosum* in the presence of nitrate and nitrite in meat reveals its response to nitrosative stress. *Frontiers in Microbiology* 2014; 5: 691. doi: 10.3389/fmicb.2014.00691.
39. Thomas DD. Breathing new life into nitric oxide signaling: a brief overview of the interplay between oxygen and nitric oxide. *Redox Biology* 2015; 5: 225-233. doi:10.1016/j.redox.2015.05.002.
40. Taormina PJ. Meat and poultry: Curing of meat. Batt CA, Tortorello ML. eds. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*, London: Academic Press, 2014; p. 501-507.
41. Piližota V. Fruits and vegetables (including herbs). Motarjemi Y, Lelieveld H. eds. In: *Food Safety Management*. Oxford: Academic Press, 2014; p. 213-249.
42. Leistner L, Gorris L. Hurdle Technologies Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality. First Edition. New York: Springer Science Business Media, 2002; p. 93-94.
43. Yetim H, Sagdic O, Dogan M, Ockerman HW. Sensitivity of three pathogenic bacteria to Turkish cemen paste and its ingredients. *Meat Science* 2006; 74: 354-358. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.04.001.
44. Erginkaya Z, Konuray G. Microbial Assessment of Fenugreek Paste during Storage and Antimicrobial Effect of Greek Clover, *Trigonella foenum-graecum*. *International Journal of Nutrition and Food Engineering* 2016; 10: 855-858. doi: 10.5281/zenodo.1128281.
45. Laranjo M, Potes ME, Elias M. Role of starter cultures on the safety of fermented meat products. *Frontiers in Microbiology* 2019; 10: 853. doi:10.3389/fmicb.2019.00853.
46. Ananou S, Maqueda M, Martínez-Bueno M, Valdivia E. Biopreservation, an ecological approach to improve the safety and shelf life of foods. Méndez-Vilas A. ed. *Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology*. Badajoz, Spain: Formatex, 2007; p. 475-486.
47. Holzapfel WH, Wood BJB. *Lactic acid bacteria biodiversity and taxonomy*. First Edition Chichester, UK: Wiley and Sons, 2014.
48. Lorenzo JM, Munekata PE, Dominguez R, Pateiro M, Saraiva JA et al. Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: general aspects and overall description. Barba F, Sant'Ana A, Orlie V, Koubaa M. eds. In: *Innovative Technologies for Food Preservation*. London; Academic Press, 2018; p. 53-107.
49. El Adab S, Essid I, Hassouna M. Effect of starter cultures on microbial and physicochemical parameters of a dry fermented poultry meat sausage. *African Journal of Biotechnology* 2014; 13: 4155-4164. doi:10.5897/AJB2014.13874.
50. Flores M, Toldra F. Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. *Trends in Food Science & Technology* 2011; 22: 81-90. doi:10.1016/J.TIFS.2010.09.007.
51. Olivares A, Navarro JL, Flores M. Establishment of the contribution of volatile compounds to the aroma of fermented sausages at different stages of processing and storage. *Food Chemistry* 2009; 115: 1464-1472. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2009.01.083.
52. Vieco-Saiz N, Belguesmia Y, Raspoet R, Auclair E, Gancel F, et al. Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. *Frontiers in Microbiology* 2019; 10: 57. doi:10.3389/fmicb.2019.00057.
53. Silva CC, Silva SP, Ribeiro SC. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in Microbiology* 2018; 9: 594. doi:10.3389/fmicb.2018.00594.

54. EC Regulation No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28th January 2002 laying down the general principle and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety (OJ L 31 1.2.2002).
55. Koutsoumanis K, Allende A, Alvarez-Ordóñez A, Bolton D, Bover-Cid S, et al. Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 13: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2020. *EFSA Journal* 2021; 19: e06377. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6377.
56. Di Gioia D. Chapter 7-Safety of Fermented Meat. Vishweshwaraiah P, Martin-Belloso O, Keener L, Astley S, Braun S, McMahon H, Lelieveld. eds. In: *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods*. San Diego: Academic Press, 2016; 125-148.
57. Aksu Mİ, Kaya M. The effect of starter culture use in pastırma production on the properties of end product. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 2001; 25: 847-854.
58. Ledesma E, Rendueles M, Diaz M. Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control* 2016; 60: 64-87. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.07.016.
59. Gürbüz Ü, Doğruer Y, Nizamloğlu M. Pastırma Üretiminde Dumanlama İşleminin Uygulanabilme İmkanları ve Kaliteye Etkileri. *Veteriner Bilim Dergisi* 1997; 13: 57-68.
60. Garcia-Esteban M, Ansorena D, Astiasaran I. Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on colour, texture and microbiological quality. *Meat Science* 2004; 67: 57-63. doi: 10.1016/j.meatsci.2003.09.005.
61. Yildirim Y, Onmaz NE, Gönülalan Z, Al S, Yildirim A, et al. Microbiological quality of pastrami and associated surfaces at the point of sale in Kayseri, Turkey. *Public Health* 2017; 146: 152-158. doi: doi.org/10.1016/j.puhe.2017.01.003.
62. Younis RI, Nasef SA, Salem WM. Detection of Multi-Drug Resistant Food-borne Bacteria in Ready-to-Eat Meat Products in Luxor City, Egypt. *SVU-International Journal of Veterinary Sciences* 2019; 2: 20-35. doi:10.21608/SVU.2019.23168.
63. Campos J, Gil J, Mourão J, Peixe L, Antunes P. Ready-to-eat street-vended food as a potential vehicle of bacterial pathogens and antimicrobial resistance: an exploratory study in Porto region, Portugal. *International Journal of Food Microbiology* 2015; 206: 1-6. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.016.
64. Buzby JC, Roberts T. Economic costs and trade impacts of microbial foodborne illness. *World Health Statistic* 1997; 50: 57-66.
65. Zhu M, Du M, Cordray J, Ahn DU. Control of *Listeria monocytogenes* contamination in ready-to-eat meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2005; 4: 34-42. doi:10.1111/j.1541-4337.2005.tb00071.x.
66. Beumer RR, Te Giffel MC, De Boer E, Rombouts, FM. Growth of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked meat products. *Food Microbiology* 1996; 13: 333-340. doi:10.1006/fmic.1996.0039.
67. Talon R, Leroy S, Lebert I. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Science* 2007; 77: 55-62. doi:10.1016/j.meatsci.2007.04.023.
68. Menéndez RA, Rendueles E, Sanz JJ, Santos JA, García-Fernández MC. Physicochemical and microbiological characteristics of diverse Spanish cured meat products. *CyTA-Journal of Food* 2018; 16: 199-204. doi:10.1080/19476337.2017.1379560.
69. Reynolds AE, Harrison MA, Rose-Morrow R, Lyon CE. Validation of dry cured ham process for control of pathogens. *Journal of Food Science* 2001; 66: 1373-1379. doi:10.1111/j.1365-2621.2001.tb15217.x.
70. Rainaldi L, Luciani MA, Picconi F. Behavior of *Listeria spp.* in meat products. *Italian Journal of Food Science* 1991; 34: 291-297.
71. Huerta T, Hernandez J, Guamis B, Hernandez E. Microbiological and physico-chemical aspects in dry-salted Spanish ham. *Zentralbl Microbiol* 1988; 143: 475-482.
72. Blagojevic B, Robertson LJ, Vieira-Pinto M, Vang Johansen M, Laranjo-González M et al. Bovine cysticercosis in the European Union: Impact and current regulations, and an approach towards risk-based control. *Food Control* 2017; 78: 64-71. doi:10.1016/j.foodcont.2017.02.052.
73. Weiss LM, Kiss K. *Toxoplasma Gondii: The Model Apicomplexan-Perspectives and Methods*. Second Edition. London: Academic Press Elsevier, 2013; p.1085.
74. Jones JL, Dubey JP. Foodborne toxoplasmosis. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55: 845-851. doi:10.1093/cid/cis508.
75. Herrero L, Gracia MJ, Pe'rez-Arquillue C, La'zaro R, Herrera A, et al. *Toxoplasma gondii* in raw and dry-cured ham: The influence of the curing process. *Food Microbiology* 2017; 65: 213-220. doi: 10.1016/j.fm.2017.02.010.

BOZOK VETERİNER BİLİMLERİ (BOZOK VET BİL)

BOZOK VETERINARY SCIENCES (BOZOK VET SCI)

Amaç

Bozok Veteriner Bilimleri'nde, Veteriner Klinik Bilimleri, Veteriner Klinik Öncesi Bilimleri, Veteriner Temel Bilimleri, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Zootečni ve Hayvan Besleme alanlarında hazırlanmış güncel ve özgün değeri olan orijinal araştırma makaleleri, olgu sunumları, derlemeler, kısa bildirimler ve editöre mektuplar yayımlanarak ulusal ve evrensel bilime katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Kapsam

Bozok Veteriner Bilimleri Yozgat Bozok Üniversitesinin bilimsel yayın organı olup Haziran ve Aralık aylarında olmak üzere yılda iki kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi 'Bozok Vet Sci'dir. Yayın hayatına 2020 yılından itibaren başlayacak olan Bozok Veteriner Bilimleri hakemli ve bilimsel süreli dergi olarak yayımlanacaktır.

Dergimizde, Türkçe ve İngilizce dillerinden birinde hazırlanmış olan ve daha önce başka bir dergiye eş zamanlı olarak sunulmamış Veteriner Klinik Bilimleri, Veteriner Klinik Öncesi Bilimleri, Veteriner Temel Bilimleri, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Zootečni ve Hayvan Besleme alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, davetli ve editör onayı alınmış derlemeler, kısa bildirimler ve editöre mektuplar yayımlanır.

YAZIM KURALLARI (MAKALENİN-YAZININ HAZIRLANMASI)

1. Yazıların sorumlulukları yazarlarına aittir. Gönderilen yazının yayımlanabilmesi için, yayın kurulunca tayin edilen danışmanlar tarafından uygun bulunması şarttır. Dergide yayımlanan yazılar için ücret ya da karşılık ödenmez. Kabul edilmeyen yazılar ve ekleri, aksi belirtilmediği takdirde iade edilmez.

2. Derginin yayın dili Türkçe ve İngilizce. Yayının başında, Türkçe "Özet", İngilizce "Abstract" kısımları yer almalıdır. Özet (Abstract) bölümü 200 kelimeyi geçmemelidir.

3. Metinde sade ve anlaşılır bir yazım dili kullanılmalı, bilimsel yazım tarzı benimsenmeli, gereksiz tekrarlardan kaçınılmalı ve kısaltmalar ilk kullanıldığı yerde tanımlanmalıdır.

4.Bozok Veterinary Sciences'nde yayına kabul edildiği takdirde her türlü yayın hakkının devredildiğine dair beyanları kapsayan "Copyright Form - Yayın Hakkı Devir Sözleşmesinin" sorumlu yazar tarafından imzalanarak pdf formatında gönderilmesi gerekmektedir.

5. Dergiye sunulan çalışmaların "etik kurul onayı" sorumluluğu yazarlara aittir. Bununla beraber Editör, gerektiğinde yazarlardan etik kurul belgesi isteme hakkını saklı tutar.

6. Makalede yer alan tüm yazarların bir bilimsel araştırmacı tanımlama sistemi olan ORCID ID (Open Researcher and Contributor Identifier) kayıt numarası bilgisini makale gönderilme aşamasında sisteme yüklemesi gerekmektedir. ORCID ID kaydı, <http://orcid.org> adresinden ücretsiz yapılabilir.

7. Yazışma adresinde belirtilen yazar; tüm yazışmalardan, makale üzerindeki değişikliklerden (yazar sayı ve sırası dahil) ve yayına kabul edilen yazıların matbaa provasının düzeltilmesinden sorumludur.

8. Elektronik sunum: Yayın inceleme sürecini hızlandırmak amacıyla yazılar tam olarak elektronik olarak sunulmalıdır.

9. Yayımlanması istenen çalışmalar; Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, *Times Roman* yazı karakterinde 12 punto, çift aralıklı, sayfanın tüm kenarlarında 3 cm boşluk olacak şekilde ve ilk sayfadan başlayacak şekilde satır numaraları ile birlikte yazılmalıdır. Çalışmada yer alan yazarlar ile ilgili bilgiler "Başlık Sayfası-Title Page" ile "Esas Doküman-main document" den ayrı sunulmalıdır. Orijinal araştırma ve derleme makalelerinde 16 sayfa, literatür listesi mümkünse ise 30 adet sınırını, şekil ve tablo sayısı ise 8 adet sınırını aşmaması tercih edilmelidir. Kısa bildiri ve olgu sunumlarında 10 sayfayı aşmamalıdır.

10. Bozok Veteriner Bilimleri'ne gönderilen yazılar, aşağıdaki sıraya göre (Başlık, Özet, Metin, Kaynaklar, Tablolar ve Şekiller) düzenlenmeli, Tablo ve Şekiller ayrı sayfalarda belirtilmelidir.

11. Dergiye gönderilen çalışmalar Abstract, Özet, Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Kaynaklar başlıklarından oluşmalıdır. Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma ve Sonuç bölümleri numara

verilerek belirtilmelidir (1.Giriş, 2.Materyal ve Metot, 3.Bulgular, 4.Tartışma ve Sonuç). Alt başlıklar 1.1., 1.2., şeklinde ardışık olarak numaralandırılmalıdır. Referanslar bölümü numaralandırılmamalıdır.

a. Başlık: Başlık kısa, açık, tüm harfleri büyük ve yazı için uygun olmalıdır. Özellikle elektronik sunumda makalenin sadece başlığı, (yazar ve kurum adresi vermeksizin) yazılmalıdır. Bu yöntem, yazıların uzmanlarca tarafsız bir şekilde değerlendirilmesini sağlamak amacıyla uygulanmaktadır.

b. Özet: Türkçe yazılarda Türkçe ve İngilizce özet olmalıdır. İngilizce yazılarda Türkçe özet de gereklidir. Özet, 250 kelimedenden daha uzun olmamalı; amaç, materyal ve metot, bulgular ile sonucunu içermelidir. Özetlerin altına 4-6 adet anahtar kelime verilmelidir. Türkçe anahtar kelimeler "Türkiye Bilim Terimleri (TBT)"ne uygun olarak verilmelidir (Bkz. <http://www.bilimterimleri.com>). İngilizce anahtar kelimeler "Medical Subject Headings (MESH)" e uygun olarak verilmelidir (Bkz. <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>).

c. Metin: Araştırma makalelerinde; Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ile Tartışma ve Sonuç bölümleri, olgu sunumlarında ise; Giriş, Olgu Sunumu, Tartışma ve Sonuç bölümleri olmalıdır. Bölüm başlıkları ilk harfi büyük olacak şekilde küçük harfler ile yazılmalıdır. Yazılarda "Systeme International (SI)" birimleri kullanılmalıdır. Derleme makaleler için hazırlanan özet derlemenin konusu hakkında bilgi ve derlemenin amacından oluşmalıdır. Derleme makalesi "Giriş" ile başlamalı, yazar/lar tarafından belirlenecek ara başlıklarla devam etmeli, "Sonuç" ve "Kaynaklar" ile tamamlanmalıdır.

d. Sembol, birim ve kısaltmalar: Dergimiz, *Scientific Style and Format, The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*, Council of Science Editors, Reston, VA, USA (7th ed.) tarafından belirtilen sistemi kabul etmektedir. \times , μ , η , veya v gibi semboller MS Word sembol listesinden seçilerek kullanılmalıdır. Derece ($^{\circ}$) sembolü gösterimi için; "O" harfinin veya "0" rakamının üst simge şeklinde gösterilmesi ile yapılmamalı sembol menüsünden kullanım tercih edilmelidir. Çarpım " \times " harfi değil sembol menüsü (\times) kullanılmalıdır. Sayı, birim ve matematiksel semboller (+, -, \times , =, <, >), kullanıldıktan sonra bir boşluk bırakılmalı (örneğin, 3 kg), yüzde işaretinden sonra boşluk bırakılmamalıdır (örneğin, %45). Latince et al., in vitro veya in situ terimleri italic olarak gösterilememelidir.

e. Kaynaklar: Kaynaklar metin içinde parantez içinde numara ile belirtilmelidir. Birden fazla kaynağa atıf yapılacaksa aynı parantez içerisinde belirtilmelidir örn, (3,5,7-11). Literatür listesinde yer alan kaynakların her biri için metinde atıf yapılmalıdır.

Beşten fazla yazarı olan kaynaklarda, beşinciden sonrası için "et al." eki kullanılmalı, aşağıda verilen sistematik ile noktalama işaretleri ve yazım kurallarına dikkat edilerek yazılmalıdır.

f.1. Kaynak süreli yayın ise;

Örnek:

1. Durmuş İ, Demirtaş ŞE, Can M, Kalebaşı S. Determining egg consumption habits in Ankara. Tavukçuluk Araştırma Dergisi 2007; 7: 42-45 (article in Turkish with an English abstract).

2.Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infection and Drug Resistance 2018; 11: 1645-1658. doi: 10.2147/IDR. S173867.

f.2. Kaynak editörlü kitaptan bir bölüm ise;

Örnek:

3. Gay CC, Besser TE. Escherichia coli septicaemia in calves. Gyles CL. eds. In: Escherichia Coli in Domestic Animals and Humans. Wallingford: CAB International, 1994; pp.75-90.

f.3. Kaynak kitap ise;

Örnek:

4. Varley H, Gowenlock AH, Bell M. Practical Clinical Biochemistry. Fifth Edition. London: William Heinemann Medical Books Ltd, 1984; p. 685.

d.4. Kaynak editörlü kitap ise;

Örnek:

5. Constable PD, Hinckliff KW, Done SH, Grunberg W. Veterinary Medicine. Eleventh Edition. London: W.B. Saunders Company, 2017; p.57.

f.5. Kaynak kongre bildirisi ise;

Örnek:

6. Kirbas A, Degirmencay S., Kilinc AA, Eroglu MS. Increased cardiac troponin-I concentration and cardiac enzyme activities in neonatal calves with sepsis. Second International Veterinary Internal Medicine Congress. October, 11-13, 2019; Ankara-Türkiye.

f.6. Kaynak tez ise;

Örnek:

7. Kırbaş A. Elâzığ, Samsun, Sivas, Tokat ve Yozgat illerindeki sığır ve koyunlarda Kırım Kongo Kanamalı Ateş virüs enfeksiyonunun seroprevalansının araştırılması, Doktora tezi, Fırat Üniv Sağ Bil Ens, Elâzığ 2009; s.1-2. (thesis in Turkish with an English abstract).

f.7. Web tabanlı erişimler kaynak olarak gösterilmemelidir.

e. Tablolar; kaynaklar kısmından sonra, her bir tablo ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tablo başlıklarının yalnızca ilk harfleri büyük olmalıdır. Tablo başlıkları tablonun üzerinde bulunmalı ve **Tablo 1. (Table 1.)** şeklinde numaralandırılmalıdır. Tablolarda iç ve yan kılavuz çizgiler kullanılmamalıdır. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar tabloların altına yerleştirilmelidir.

Örnek:

Table 1. Determination of elements in Dogfish Liver certified reference material

	Concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
	Certified ^a	Found ^b	R(%)
Al ^c	200	215 \pm 10	108
V ^c	0.6	0.56 \pm 0.01	93
Cr ^c	1.4	1.52 \pm 0.02	109
Co ^c	0.25	0.28 \pm 0.02	112
As	9.66 \pm 0.62	9.55 \pm 0.16	99
Cd	24.3 \pm 0.8	24.2 \pm 0.3	100
Cu	31.2 \pm 1.1	31.7 \pm 0.4	102
Fe	1833 \pm 75	1914 \pm 65	104
Pb	0.16 \pm 0.04	0.16 \pm 0.02	100
Hg	2.58 \pm 0.22	2.31 \pm 0.02	90
Ni	0.97 \pm 0.11	0.94 \pm 0.03	97
Se	8.3 \pm 1.3	8.3 \pm 0.2	100
Ag	0.93 \pm 0.07	0.86 \pm 0.01	92
Zn	116 \pm 6	113 \pm 1	97

^aAt 95 % confidence level

^b $\bar{x} \pm SD$, n=3, ^cInformation value

g. Her resim, grafik ve çizim; şekil olarak kabul edilip **Şekil 1. (Figure 1.)** gibi yazılmalı, her biri ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar şekil ismi ile birlikte şeklin altına yerleştirilmelidir. Resimler 300dpi çözünürlükte olmalıdır.

Örnek:

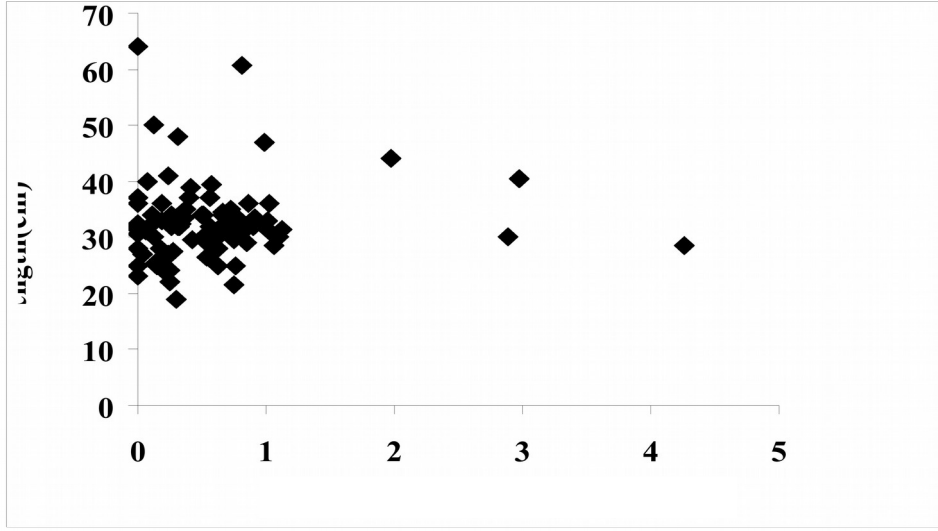


Figure 1. Concentration of Hg (mg kg⁻¹)

11. Yayının baskı öncesi matbaa provası yazışmadan sorumlu yazara gönderilir ve üç gün içerisinde kontrol edilerek dergiye geri gönderilmesi istenir.

12. Her yayın için Bozok Veteriner Bilimleri'nin ilgili sayısı yazışmadan sorumlu yazara gönderilir. Makalelerin PDF türü tam metin dosyalarına derginin web sayfasından erişilebilir.

BOZOK VETERİNER BİLİMLERİ
Yayın Hakları Devri Sözleşmesi

Makale Türü: () Araştırma () Olgu Sunumu () Derleme () Kısa bildiri () Editöre mektup

Makale Başlığı:.....

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

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

Sorumlu Yazar

Adı ve Soyadı:

Adres:

Tel/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

Not: Lütfen formu doldurduktan sonra pdf formatında, başlangıç sayfası ve esas doküman ile birlikte e-posta adresimize gönderiniz.

Elektronik posta:

bvs@bozok.edu.tr

bvs@yobu.edu.tr

Adres:

Yozgat Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Sorgun Meslek Yüksekokulu Binası, Ahmet Efendi Mah. Toki konutları
Yanı 3500.Cad. No:4 66700 SORGUN/YOZGAT

**BOZOK VETERINARY SCIENCES
COPYRIGHT RELEASE FORM**

Article Type: Research Case Report Review Short Paper Letter to Editor

Manuscript Title:

.....

As the authors of the article whose type and title are mentioned above; We wish to prepare and publish Bozok Veterinary Sciences with the knowledge and acceptance of the editorial and publication terms, and the article that we sent to Bozok Veterinary Sciences Editor is original, partially or completely not published before or not sent to another publication institution simultaneously, any scientific and ethical issues that may arise after the article is published. We undertake that we are responsible and that Bozok Veterinary Sciences will not bear any responsibility, and that we have transferred all rights of publication to Bozok Veterinary Sciences as of the date of publication, together with the corrections required by the consultant and journal editor.

However, patents, other than the copyright of the authors, etc. registered rights, authors' right to use all or part of the article free of charge in their works such as books and lessons, and the right to reproduce the article for non-commercial use.

Corresponding Author

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:..... Signature:.....

Notes: Please fill the form and send it to our e-mail address in pdf format with the start page and the main document.

E-mail: bvs@bozok.edu.tr

bvs@yobu.edu.tr

Adress: Yozgat Bozok University, Faculty of Veterinary Medicine, Sorgun Vocational School Building, Ahmet Efendi Mah. Toki konutları Yanı 3500.Cad. No:4 66700 SORGUN/YOZGAT



İçindekiler / Contents

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

- Alali F, Sevinç F, Ceylan O . Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis in Konya province, Turkey.....**23-28
- Alali F, Sevinç F, Babür C, Ceylan O. Seroprevalence of Canine Toxoplasmosis by Sabin Feldman Dye Test in Konya Province, Turkey.....**29-33

DERLEMELER/ REVIEW ARTICLES

- Gökalp G, Kırbaş A. Kedilerin Atopik Sendromuna Güncel Yaklaşım.....**34-40
- Köse S, Saçaklı P. Süt İneklerinde Sıcak Stresinin Etkileri ve Beslenme Stratejileri.....**41-46
- Doğan N, Doğan C. Mucizevi Bitki Kenevir 'in (Cannabis sativa L.) Gıda Endüstrisinde Kullanımı.....**47-56
- Kaya S, Akın G, Koçak G, Kaçar C. Anti-Müllerian Hormonunun Dişi Kedi ve Köpeklerde Klinik Kullanımı.....**57-61
- Aydın Ö, Kırbaş A. Köpeklerin Parvovirüs Enfeksiyonlarında Tedavi Uygulamalarına Güncel Yaklaşım.....**62-72
- Bedir AG, Turgut F. Veteriner Fitoterapide Yara Bakımında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler.....**73-79
- Turgut F, Bedir AG. Kırık İyileşmesinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisinin Kullanılması.....**80-84
- Gökalp AB. Sığır Mastitislerinde Yaz Mastitisinin Yeri.....**85-95
- Kandır S. Nörogenetik Hastalıklarda Alternatif Model: Köpekler.....**96-100
- Aydın Ö, Aktaş MS. Kedi ve Köpeklerde Kullanılan Bazı İmmüsupresif İlaçlar ve Kullanım Amaçları.....**101-107
- Aydın Ö, Aktaş MS. Hayvanlarda Kullanılan Bazı İmmünstimülanların Genel Özellikleri ve Farklı Hayvan Türlerinde Yapılan Çalışmalar.....**108-114
- Dışhan A, Yetim H, Gönülalan Z. Pastırma Mikrobiyotası.....**115-125