



VAN VETERINARY JOURNAL



April 2015

Owner

Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Dean)

ISSN: 2149-3359

Editor-in Chief

Prof. Dr. Nihat MERT

YYU, Veteriner Fak., Dergi Editorlugu

Kampus / Van - Turkey

Tel: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 (432) 225 11 27

e-mail: vfd@yyu.edu.tr

Associate Editors

Prof. Dr. Ebubekir CEYLAN

Assoc. Prof. Dr. Ozgur ISLEYICI

Assoc. Prof. Dr. Ismail Hakki EKIN

Assist. Prof. Dr. Bahat COMBA

Publication Board

Prof. Dr. Abuzer TAS (Univ. of Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Ali CINAR (Univ. of Ataturk)

Prof. Dr. Askarbek TULEBAEV (Manas, KYRGYZSTAN)

Prof. Dr. Axel WEHREND (Giessen, GERMANY)

Prof. Dr. Berrin SALMANOGLU (Univ. of Ankara)

Prof. Dr. Ehab Abu-Basha (Irbid, JORDAN)

Prof. Dr. Gert W NIEBAUER (Vienna, Austria)

Prof. Dr. Gursel SONMEZ (Univ. of Uludag)

Prof. Dr. Handan MERT (Univ. of Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Hasan Altan AKKAN (Univ. of Mehmet Akif Ersoy)

Prof. Dr. Hasan Huseyin HADIMLI (Univ. of Selcuk)

Prof. Dr. James M.MAY (Nashville, TN, USA)

Prof. Dr. Kamil EKICI (Univ. of Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Kemal Ozdem OZTABAK (Univ. of Istanbul)

Prof. Dr. Mehmet Akif KARSLI (Univ. of Kirkkale)

Prof. Dr. Taylan AKSU (Univ. of Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Tevhide SEL (Univ. of Ankara)

Prof. Dr. Volkan AKYOL (Univ. of Uludag)

Assoc. Prof. Dr. Devrim S. AKSU (Univ. of Yuzuncu Yil)

Assoc. Prof. Dr. Hasan Huseyin ARI (Univ. of Cumhuriyet)

Assoc. Prof. Dr. Nalan OZDAL (Univ. of Yuzuncu Yil)

Assoc. Prof. Dr. Tugba BINGOL (Univ. of Yuzuncu Yil)

Assist. Prof. Dr. Bahattin CAK (Univ. of Yuzuncu Yil)

Assist. Prof. Dr. Zeynep KARAPINAR (Univ. of Yuzuncu Yil)

Assist. Prof. Dr. Selim CINAROGLU (Univ. of Yuzuncu Yil)

Assist. Prof. Dr. Yildiray BASBUGAN (Univ. of Yuzuncu Yil)

Dr. Josip LOVRIC (Manchester, ENGLAND)

Scientific Board of This Issue

Prof. Dr. Abdurahman AKSOY, Univ of Ondokuz Mayıs

Prof. Dr. Ferda BELGE, Univ of Adnan Menderes

Prof. Dr. Aysegul BILDIK, Univ of Adnan Menderes

Prof. Dr. Ziya Gokalp CEYLAN, Univ of Ataturk

Prof. Dr. Ali CINAR, Univ of Ataturk

Prof. Dr. Ramazan DURGUT, Univ of Mustafa Kemal

Prof. Dr. Ali Said DURMUS, Univ of Firat

Prof. Dr. Ertugrul ELMA, Univ of Kirikkale

Assoc. Prof. Dr. Ozgur ISLEYICI, Univ of Yuzuncu Yil

Prof. Dr. Asuman OZEN, Univ of Ankara

Prof. Dr. Ahmet Ates SAHIN, Univ of Firat

Prof. Dr. Ufuk Tansel SIRELI, Univ of Ankara

Prof. Dr. Mecit YORUK, Univ of Yuzuncu Yil

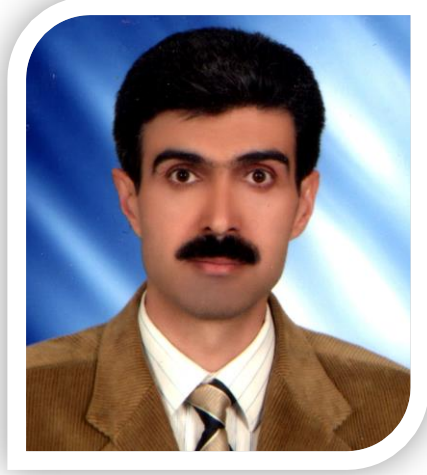
This journal is published three times a year

All articles in this journal are available free of charge from <http://vfdergi.yyu.edu.tr>

Published by Onder Ofset, Van, Türkiye

Year	Volume	Issue
2015	26	1

This journal indexed / abstracted in EBSCOhost, CAB Abstracts, DOAJ, Index Copernicus, TUBITAK-ULAKBIM, Türkiye Atif Dizini and Google Scholar



DEKANIN MESAJI

Değerli meslektaşlarım,

Fakülte dergimiz 1990 yılından bugüne kadar **“YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ (THE JOURNAL OF THE FACULTY OF VETERINARY MEDICINE UNIVERSITY OF YUZUNCU YIL)”** adıyla yayımlanmıştır. Geçen bu süre zarfında dergimiz çok değerli meslektaşlarımızın gerek yönetsel gerekse bilimsel katkılarıyla aralıksız olarak yayımlandı. 25 yılı aşan bu süreç, fakültemiz açısından bir başarıdır.

Dolayısıyla günümüze kadar emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım. Dergimiz yayın süresince hep uluslararası standartlarda kriterleri kendine hedef edinmiştir. Fakat üzülmek ifade etmeliyim ki çeyrek asırlık yayım hayatına sahip bir derginin bugün uluslararası kriterlerde hak ettiği yere ulaşamadığı görülmektedir. Büyük bir inanç ve özveriyle dergimizi yakın gelecekte hak ettiği konuma getirebileceğimize inancım tamdır. Dergimizin adının çok uzun olması bizlere ve meslektaşlarımıza birçok açıdan sıkıntı oluşturmaktaydı. Editörümüz Prof. Dr. Nihat Mert ve Yayın Kurulu Üyeleri tarafından dergimize yeni ad olarak önerilen **“VAN VETERINARY JOURNAL”** dekanlığımızca da uygun görülmüş gerekli yasal işlemler tamamlanmış ve yeni sayısına yeni ismiyle sunulmuştur. İsim değişikliğinin yazışmalarda ve dergimizin taranmasında daha fazla kolaylıklar sağlayacağı kanaatindeyim. Ayrıca güçlendirilmiş yeni editöryal komiteyle dergimiz daha hızlı yol kat edecektir. Editörümüze ve emeği geçen tüm meslektaşlarıma başarılar diler, saygılar sunarım.

Prof. Dr. Zafer SOYGÜDER

DEKAN



Isolation of Dermatophytes from Cattle, Sheep, Goats and Van Cats in Van and its Around

Ziya İLHAN

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Van, Turkey

Received: 04.09.2014

Accepted: 28.09.2014

SUMMARY

The goal of this research was to identify the causative agents of dermatophytes in different animal species in Van region. A total of 170 samples of skin scraping and hair obtained from 54 cattle, 44 sheep, 21 goats and 51 Van cats with suspected dermatophytosis were examined for dermatophytes. Of the 170 animals examined 57 (33.5%) were culture positive for dermatophytes. The isolation rates of dermatophyte species from cattle, sheep, goats and Van cats were 33.3% (n: 18), 18.1% (n: 8), 33.3% (n: 7) and 47.1% (n: 24), respectively. Out of 57 strains of dermatophytes isolated, 13 (22.8%) were identified as *Trichophyton (T.) verrucosum*, 13 (22.8%) were *T. rubrum*, 10 (17.5%) were *Microsporum (M.) gypseum*, 9 (15.7%) were *T. tonsurans*, 7 (12.2%) were *M. mentagrophytes*, 3 (5.2%) were *M. canis* and 2 (3.5%) were *M. nanum*. In conclusion, the most common isolates were *T. verrucosum* and *T. rubrum* from the cattle, sheep, goats and Van cats in Van and its around

Key Words: Cattle, Dermatophytosis, Goat, Isolation, Van Cats

ÖZET

Van ve Yöresindeki Dermatofitozis Şüpheli Sığır, Koyun, Keçi ve Van Kedilerinden Dermatofitlerin İzolasyonu

Bu çalışmada, klinik olarak dermatofitozis şüphesi görülen bazı evcil hayvan türlerinden dermatofitlerin izolasyonu amaçlandı. Toplam 170 evcil hayvanın incelendiği projede, hayvanların 57'sinden (%33.5) dermatofit türü izole edilirken, 113 (%66.5) hayvandan ise her hangi bir dermatofit türü izole edilmedi. İncelenen 54 sığırın 18'ü (%33.3), 44 koyunun 8'i (%18.1), 21 keçinin 7'si (%33.3) ve 51 Van kedisinin 24'ü (%47.1) dermatofit yönünden pozitif bulundu. Dermatofitozis etkeni olarak hayvanların 13'ünden (%22.8) *Trichophyton (T.) verrucosum*, 13'ünden (%22.8) *T. rubrum*, 10'undan (%17.5) *Microsporum (M.) gypseum*, 9'undan (%15.7) *T. tonsurans*, 7'sinden (%12.2) *M. mentagrophytes*, 3'ünden (%5.2) *M. canis* ve 2'sinde (%3.5) ise *M. nanum* üredi. Sonuç olarak, Van ve yöresindeki sığır, koyun, keçi ve Van kedilerinden en yüksek oranda *T. verrucosum* and *T. rubrum* izole edildi.

Anahtar Kelimeler: Dermatofitozis, İzolasyon, Keçi, Koyun, Sığır, Van Kedisi

GİRİŞ

Dermatofitozis (ringworm/dermatomikozis), insan dahil birçok memeli ve kanatlı hayvan türünde, çeşitli mantar türleri tarafından oluşturulan ve dünyanın birçok bölgesinde görülen önemli bir deri enfeksiyonudur. Enfeksiyon, hayvanlarda genel olarak vücudun farklı bölgelerinde kıl dökülmesi, deride kepeklenme, deri ve kıllarda renk açılması, tırnak ve boynuz gibi cansız dokularda oluşan çeşitli lezyonlarla karakterizedir. Dermatofitozis; *Microsporum (M.)*, *Trichophyton (T.)* ve *Epidermophyton (E.)* cinsine ait mantarlar tarafından oluşturulmaktadır (Cabañes, 2000; Kohosravi ve Mahmoudi, 2003; Ateş, 2007; Pandey ve Pandey, 2013). İnsan ve hayvanlarda dermatofitozise yaklaşık 40 tür neden olmakla birlikte, enfeksiyondan en çok *M. canis*, *T.*

mentagrophytes, *T. rubrum*, *T. verrucosum* ve *M. gypseum* sorumlu tutulmaktadır (Ateş, 2007; Chermette ve ark., 2008).

Dermatofitozise neden olan mantarlar doğal olarak bulunma ve konakçı özelliklerine göre; insan (antropofilik), hayvan (zoofilik) ve toprak (geofilik) orijinli olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. (Cabañes, 2000; Arda, 2006). Dermatofitozis dünyanın birçok yerinde görülmekle birlikte, bölgesel olarak tropikal ve subtropikal bölgelerde, mevsimsel olarak ilkbahar ve kış mevsimlerinde, yaş olarak ise gençlerde daha yoğun olarak görülmektedir (Moriello, 2004; Bernardo ve ark., 2005; OIE, 2005; Yahyaaray ve ark., 2009; Şeker ve Doğan, 2011; Pandey ve Pandey, 2013). Dermatofitoziste bulaşma en çok enfekte hayvanlarla veya etken barındıran toprakla direkt temas yoluyla olmaktadır (OIE, 2005; Yahyaaray ve

ve ark., 2009; Larone, 2011). Toplu yetiştirilen hayvanlar arasında bulaşmanın daha kolay olduğu, etkeni barındıran kıl, tüy ve deri örneklerinde dermatofit türlerinin uygun çevre şartlarında aylarca enfektif özelliklerini koruduğu bildirilmektedir (OIE, 2005).

Dünyanın farklı bölgelerinde insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalar incelendiğinde, gerek dermatofitozise neden olan etkenlerin gerekse hastalığın prevalansının önemli düzeyde farklılıklar gösterdiği görülmektedir (Ranganathan ve ark., 1998; Chinelli ve ark., 2003; Khosravi ve Mahmoudi, 2003; Aghamirian ve Ghiasian, 2009; Yahyaraeyat ve ark., 2009). Türkiye’de dermatofitozisle ilgili bazı çalışmalar yapılmış olmakla birlikte (Çiftci ve ark., 2005; Tel ve Akan, 2006; Alpun ve Özgür, 2009; Şeker ve Doğan, 2011), Van ve yöresindeki hayvanlarda dermatofitozisle ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu projede, klinik olarak dermatofitozis şüphesi görülen sığır, koyun, keçi ve Van kedilerinde dermatofitlerin izolasyonu amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

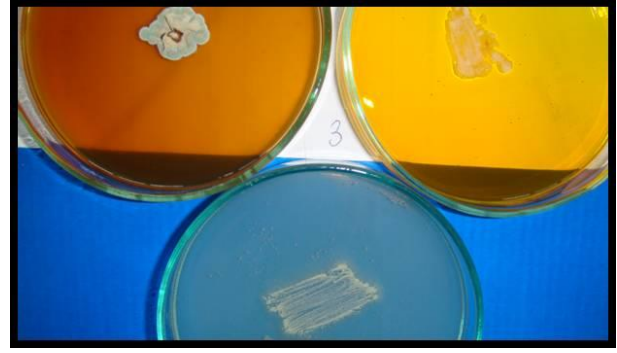
Çalışma kapsamında, ortalama 3 ay öncesine kadar herhangi bir dermatofitozis tedavisi görmemiş, klinik olarak dermatofitozis şüpheli 54 adet sığır, 44 adet koyun, 21 adet keçi ve 51 adet Van kedisinden olmak üzere toplam 170 adet evcil memeli hayvandan materyal toplandı. Sığırlara ait örnekler özel aile işletmelerdeki hayvanlardan; koyun ve keçi örnekleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nde barınan hayvanlarla özel aile işletmelerdeki hayvanlardan; kedi örnekleri ise Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van Kedisi Araştırma ve Uygulama Merkezinde barınan kediler ile evlerde beslenen kedilerinden alındı. Materyal olarak hayvanlardan folikülleriyle birlikte kıl veya tüy örnekleri ve deri kazıntısı alındı (Arda, 2006; Aghamirian ve Ghiasian, 2009; Larone, 2011). Materyaller alınmadan önce, lezyonlu bölge %70’lik alkolle temizlendi ve alkol kuruduktan sonra deri kazıntıları steril pens veya bistüriyle, kıl veya tüy örnekleri ise kökleriyle birlikte steril pense, 2 seri olarak alınıp, steril plastik tüplere konuldu ve kısa sürede Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’na ulaştırıldı. Örneklerin bir serisi direkt bakteriyoskopi, diğeri ise izolasyon amacıyla kullanıldı (Arda, 2006; Tel ve Akan 2008; Aghamirian ve Ghiasian, 2009; Larone, 2011; Şeker ve Doğan, 2011).

Direkt Bakteriyoskopi, İzolasyon ve İdentifikasyon

Direkt bakteriyoskopi amacıyla temiz bir lamın orta kısmına %15’lik KOH’ten yaklaşık 50 µl konuldu ve üzerine temiz bir pense tutulan 5-6 adet kıl veya tüy, ya da bir miktar deri kazıntısı yerleştirildi. Preparatlar oda ısısında 15-20 dk bekletilerek veya gerekli durumlarda alttan hafifçe ısıtılıp (50-60°C’de) incelendi. Üzerleri temiz bir lamelle kapatılıp önce 20 (x 10), sonra da 40 (x 10) büyütmeyle ışık mikroskopunda, mantar elementleri (hifa ve konidia) yönünden incelendi (Arda, 2006; Yahyaraeyat ve ark., 2009; Larone, 2011; Şeker ve Doğan, 2011).

İzolasyon amacıyla örneklerden sabouraud dekstroz agar (SDA) (DM200, Mast Diagnostics, Merseyside, UK) ve dermatofit test mediyuma (DTM) (7265A, Acumedia, Michigan, USA) ekimler yapıldı. DTM’a suplement olarak kloramfenikol (0.05 mg/ml) (220551, Calbiochem, Darmstadt, Germany) ve sikloheksimit (0.5 mg/ml) (C7698, Sigma-Aldrich, Steinheim, China) katıldı. Besiyerleri 25°C’de ve aerobik atmosferde, haftada iki kez üreme kontrolleri yapılarak, 5 hafta inkube edildi

(Brilhante ve ark., 2003; Arda, 2006; Tel ve Akan, 2008; Yahyaraeyat ve ark., 2009; Şeker ve Doğan, 2011; Larone, 2001).



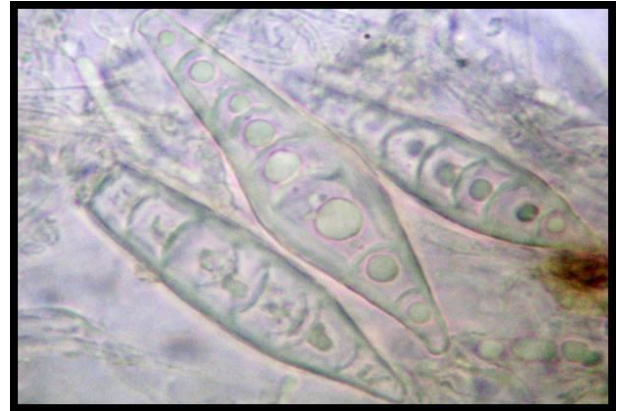
Şekil 1. *Trichophyton verrucosum*’un SDA (üstte solda), DTM (üstte sağda) ve CMA’da (allta), 37°C’de 1 hafta inkübasyondan sonraki kolonisi

Figure 1. *Trichophyton verrucosum*, SDA (top, left), DTM (top, right), CMA (bottom), 37°C, 1 week



Şekil 2. *Microsporium gypseum*’un laktofenol pamuk mavisi ile boyanmış mikroskopik morfolojisi (10x100)

Figure 2. *Microsporium gypseum* (stained with lactophenol cotton blue) (10x100)

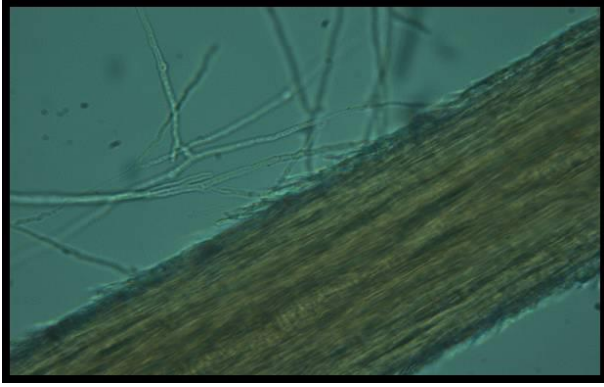


Şekil 3. *Microsporium canis*’in laktofenol pamuk mavisi ile boyanmış mikroskopik morfolojisi (10x100)

Figure 3. *Microsporium canis* (stained with lactophenol cotton blue) (10x100)

İzole edilen etkenlerin identifikasyonları koloni morfolojisi, laktofenol pamuk mavisi (LFPM) (1.13741, Merck, Germany) ile mikroskopik morfoloji, üreme gereksinimleri, üreaz testi, kıl perforasyon testi, 37°C’de üreme özelliği ve corn meal agarda (CMA, 7350A, Acumedia, Michigan, USA) pigmentasyon özelliklerine göre

yapıldı (Tel ve Akan, 2008; Aghamirian ve Ghiasian, 2009; Alpın ve Özgür, 2009; Yahyaraeyat ve ark., 2009; Larone, 2001) (Şekil 1-4).



Şekil 4. Pozitif kıl perforasyon testi (*Trichophyton mentagrophytes*) (10x100)

Figure 4. Positive hair perforation test (*Trichophyton mentagrophytes*) (10x100)

İstatiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen bulgular ki-kare testiyle istatikselsel olarak değerlendirildi. (Thrusfield, 1986).

BULGULAR

Toplam 170 evcil hayvanın incelendiği bu projede, hayvanların 57'sinden (%33.5) dermatofit türü izole edilirken, 113 (%66.5) hayvandan ise her hangi bir dermatofit türü izole edilmedi (Tablo 1). Hayvanlardan dermatofitozis etkeni olarak *Microsporum* ve *Trichophyton* cinslerine ait mantarlar izole edilirken, *Epidermophyton* cinsine ait her hangi bir etken izole edilmedi.

Sığır, koyun, keçi ve Van kedilerinden 4 farklı *Microsporum* ve 3 farklı *Trichophyton* türü etken izole edildi. Hayvan türlerine göre izole edilen dermatofit türleri ve oranları tablo 2'de gösterildi. Yapılan istatikselsel değerlendirmede;

Tablo 2. Hayvan türlerine göre izole edilen dermatofitler (%)

Table 2. Isolated dermatophytes according to animal species (%)

Dermatofit türler	Sığır (n: 54)	Koyun (n:44)	Keçi (n:21)	Van kedisi (n:51)	Toplam (n:170)
<i>M. gypseum</i>	-	2 (4.5)	2 (9.5)	6 (11.7)	10 (17.5)
<i>M. mentagrophytes</i>	-	1 (2.2)	1 (4.7)	5 (9.8)	7 (12.2)
<i>M. canis</i>	-	-	-	3 (5.8)	3 (5.2)
<i>M. nanum</i>	-	-	-	2 (3.9)	2 (3.5)
<i>T. verrucosum</i>	9 (16.6)	1 (2.2)	-	3 (5.8)	13 (22.8)
<i>T. rubrum</i>	5 (9.2)	2 (4.5)	1 (4.7)	5 (9.8)	13 (22.8)
<i>T. tonsurans</i>	4 (7.4)	2 (4.5)	3 (14.2)	-	9 (15.7)
Toplam	18 (33.3)	8 (18.1)	7 (33.3)	24 (47.1)	57 (100)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Dermatofitozisle ilgili dünyanın farklı bölgelerinde çeşitli hayvan türlerinde birçok çalışma yapılmıştır. Brezilya'da, dermatofitozis semptomları gösteren 189 köpek ile 38 kediden alınan deri kazıntılarının mikolojik analizinde;

koyun ile sığır, koyun ile keçi ve koyun ile Van kedileri arasında dermatofitlerin izolasyon oranları arasında önem bulunurken ($P < 0.05$), diğer hayvan türleri arasında önem bulunmadığı ($P > 0.05$) görüldü.

Tablo 1. Proje kapsamında incelenen hayvanlardan izole edilen dermatofitler

Table 1. Dermatophytes isolated from the animals

Dermatofit türü	İzolasyon oranı (%)
<i>M. gypseum</i>	8 (14.1)
<i>M. mentagrophytes</i>	7 (12.2)
<i>M. canis</i>	3 (5.2)
<i>M. nanum</i>	2 (3.5)
<i>T. tonsurans</i>	13 (22.8)
<i>T. verrucosum</i>	13 (22.8)
<i>T. rubrum</i>	9 (15.7)
Toplam	57 (33.8)

Kontaminant olarak sığırların 8'inden (%14.8) *Aspergillus* spp. ve 5'inden (%9.2) *Penicillium* spp.; koyunların 2'ser (%4.5) adetinden *Penicillium* spp., *Candidia* spp., *Cladosporium* spp., ve 1'inden (%2.2) *Scopulariopsis* spp.; keçilerin 3'ünden (%14.2) *Aspergillus* spp. ve 2'sinden (%9.5) *Candidia* spp.; Van kedilerinin 11'inden (%21.5) *Aspergillus* spp. ve 1'inden (%1.9) ise *Candidia* spp. üredi. Sığırlardan izole edilen *Aspergillus* türlerinin 2'si *T. rubrum*, 1'i ise *T. tonsurans*; koyunlardan izole edilen *Candidia* türlerinin 1'i *T. rubrum*; keçilerden üreyen *Aspergillus* türlerinin 1'i *T. rubrum*; kedilerden üreyen *Aspergillus* türlerinin 2'si *T. mentagrophytes* ve 2'si de *T. verrucosum* ile birlikte izole edildi.

köpeklerin 27'sinin (%14.3), kedilerin ise 14'ünün (%36.8) dermatofitler yönünden pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Köpeklerin 25'inden (%92.6) *M. canis*, 1'er (%3.7) adetinden *M. gypseum* ile *T. mentagrophytes*'in; kedilerin tamamından ise (%100) *M. canis*'in identifiye edildiği bildirilmiştir (Brilhante ve ark., 2003). Hindistan'da 211 köpek ve 170 sığırdan alınan

materyallerin kullanıldığı bir çalışmada, köpeklerin 89'undan (%42.1), sığırların ise 17'sinden (%10) dermatofit etkenlerin izole edildiği rapor edilmiştir. İzolatların 57'sinin (%53.7) *T. mentagrophytes*, 42'sinin (%39.6) *M. gypseum*, 5'inin (%4.7) *T. rubrum* ve 2'sinin (%1.8) ise *T. simii* olduğu ifade edilmiştir (Ranganathan ve ark., 1998). Portekiz'de, 978 köpek ile 320 kedide yapılan bir çalışmada, köpeklerin 146'sından (%14.9) ve kedilerin 89'undan (%27.8) spesifik etkenlerin ürettiği bildirilmiştir. Çalışmada, hayvanlardan en yüksek oranda (%70.6) *M. canis*'in izole edildiği rapor edilmiştir (Bernardo ve ark., 2005). İran'da dermatofitozis şüpheli 292 köpek, 124 kedi, 28 inek, 15 koyun, 11 tavuk, 6 keçi, 5 at, 5 tavşan ve 1 öküz olmak üzere toplam 487 hayvanda dermatofit izolasyonunun amaçlandığı bir çalışmada, 114 (%23.4) hayvandan farklı türlerde dermatofit etkenlerin izole edildiği bildirilmiştir. Kedilerin 38'inin (%30.6), köpeklerin 27'sinin (%9.2), sığırların 25'inin (%89.2), koyunların 8'inin (%53.3), keçilerin 6'sının (%100), tavukların 5'inin (%45.4), at ve tavşanların 2'sinin (%40) ve öküzlerin 1'inden (%100) kültür pozitif sonuç verdiği ifade edilmiştir. Dermatofit türleri açısından en yüksek oranda izole edilen tür 61 (53.5) hayvanla *M. canis* olup bunu, 23 (%20.2) hayvanla *T. mentagrophytes*, 20 (%17.5) hayvanla *T. verrucosum*, 5 (%4.4) hayvanla *M. gallinae*, 3 (%2.7) hayvanla *M. gypseum* ve 2 (%1.8) hayvanla *M. equinum* izlemiştir (Yahyaraeyat ve ark., 2009).

Türkiye'de kedi ve köpeklerde yapılan retrospektif bir çalışmada, incelenen 357 köpeğin 70'inden (%19.6) ve 164 kedinin 36'sından (%21.9) dermatofitlerin ürettiği rapor edilmiştir. Kültür pozitif köpeklerin 42'sinden (%60) *Microsporum* spp., 28'inden (%40) *Trichophyton* spp.; kedilerin 22'sinden (%61.1) *Microsporum* spp., 14'ünden (%38.9) ise *Trichophyton* spp. izole edildiği bildirilmiştir (Çiftçi ve ark., 2005). Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada, 211 adet köpek ile 57 adet kediye ait toplam 268 materyal dermatofit yönünden direkt bakteriyoskopi, kültür ve PCR yöntemleriyle incelenmiştir. Direkt bakteriyoskopide 39 (%14.5), kültür ile 40 (%14.9) materyalde pozitiflik saptandığı ve bu pozitifliğin PCR ile doğrulandığı bildirilmiştir. Hayvan türleri dikkate alındığında kedilerin 24'ünden (%42), köpeklerin ise 16'sından (%7.5) dermatofitozise neden olan etkenlerin izole edildiği ifade edilmiştir. Kedi materyallerinden izole edilen dermatofitlerin 23'ü (%95.9) *M. canis*, 1'i (%4.1) *M. nanum*; köpek orijinli materyallerinden izole edilen dermatofitlerin ise 8'i (%50) *M. canis*, 3'ü (%18.7) *T. mentagrophytes*, 2'si (%12.5) *T. terrestre*, 2'si (%12.5) *M. gypseum* ve 1'i de (%6.3) *M. nanum* olarak tanımlanmıştır (Tel ve Akan, 2008). Şeker ve Doğan (2011), Ankara ve İzmir illerinde barınan 198 adet köpek ile 164 adet kediden aldıkları örneklerin mikolojik analizinde, hayvanların 52'sinde (%14.4) direkt bakteriyoskopi ile mantar elementleri saptadıklarını, kültür ile köpeklerin %18.7'sinden, kedilerin ise %20.1'inden spesifik dermatofit etkenleri izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, hayvanlardan etken olarak *M. canis* (%57.1), *T. mentagrophytes* (%20), *T. terrestre* (%19.2), *M. nanum* (%11.4) ve *M. gypseum* (%8.6) ürettiğini ifade etmişlerdir.

Van ve yöresinde barınan ve dermatofitozis şüpheli çeşitli hayvan türlerinde yapılan bu çalışmada, hayvanların 57'sinden (%33.5) dermatofit türü izole edilirken, 113 (%66.5) hayvandan ise her hangi bir dermatofit türü izole edilmedi. Hayvanlardan *T. verrucosum* (%22.8), *T. tonsurans* (%22.8), *T. rubrum* (%15.7), *M. gypseum* (%14.1), *M. mentagrophytes* (%12.2), *M. canis* (%5.2) ve *M. nanum* (%3.5) üretti (Tablo 1). En yüksek izolasyon oranı Van kedilerinde (%47.1), en düşük oran ise koyunlarda

(%18.1) saptandı (Tablo 2). Bu bulgular, dermatofitlerin prevalansının farklı coğrafi bölgelerdeki hayvan türlerinde değişik oranlarda olmalarıyla ilgili bulguları desteklemektedir (Brilhante ve ark., 2003; Bernardo ve ark., 2005; Pier ve ark., 1994; Çiftçi ve ark., 2005; Tel ve Akan, 2008; Yahyaraeyat ve ark., 2009). Diğer yandan, yapılan bazı çalışmalarda dermatofitozis şüpheli sığır, koyun ve keçilerden en fazla *T. verrucosum*'un izole edildiği bildirilmektedir (Sargison ve ark., 2002; Khosravi ve Mahmoudi, 2003; Aghamirian ve Ghiasian, 2009). Benzer şekilde bu projde de sığırlardan yüksek oranda *T. verrucosum* izole edildi.

Yapılan çalışmalarda, dermatofitozis şüpheli kedi ve köpeklerden en fazla izole edilen türün *M. canis* olduğu bildirilmektedir (Brihante ve ark., 2003; Çiftçi ve ark., 2005; Tel ve Akan, 2008; Prado ve ark., 2008; Şeker ve Doğan, 2011). Brezilya'da yapılan bir çalışmada, 131 adet dermatitisli köpeğin 24'ünden (%18.3) *M. canis* izole edildiği ifade edilmiştir (Prado ve ark., 2008). Türkiye'de Tel ve Akan (2008), dermatitisli 57 kedinin 23'ü (%40.3) ile 211 köpeğin 8'inden (%3.7) *M. canis* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Alpın ve Özgür (2009), dermatitisli 62 kedinin 22'sinden (%35.4); Şeker ve Doğan (2011), hem köpeklerden (%46) hem de kedilerden (%69.7) en yüksek oranda söz konusu etkeni izole ettiklerini bildirmişlerdir. Gerçekleştirilen bu projde ise sadece Van kedilerinden (Tablo 2) *M. canis* (%5.2) izole edildi. Bu izolasyon oranının diğer çalışmalardan (Tel ve Akan, 2008; Prado ve ark., 2008; Alpın ve Özgür, 2009; Şeker ve Doğan, 2011) daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum, daha çok Van ve yöresinin coğrafi koşullarıyla ilgili olabileceği gibi, Van kedilerinin ırk özelliklerinin bir sonucu (kısa tüylü olmaları gibi) olarak da düşünülebilir. Bu konuda daha güvenilir yorumlar yapabilmek için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Antropofilik ve zoofilik bir dermatofit türü olarak değerlendirilen *T. mentagrophytes* dünyanın bazı bölgelerindeki hayvanlardan yoğun olarak izole edilmiştir (English ve Morris, 1969; Chinelli ve ark., 2003). *T. mentagrophytes*'in hayvanlardaki konakçı dağılımı önemli düzeyde değişiklik göstermektedir. Bu nedenle, insanlarda bu etkenin ileri gelen dermatofitozisin korunma ve kontrolünde hayvan konağının belirlenmesinin önemli olduğu ifade edilmiştir (Ateş, 2007). Bu çalışmada, söz konusu etkenin incelenen hayvanların %12.2'sinden izole edilmiş olması, Van ve yöresinde insan dermatofitozisiyle mücadelede *T. mentagrophytes*'in de dikkate alınmasının gerekli olduğunu düşündürmektedir.

İnsan ve hayvan dermatofitozisinin önemli etkenlerinden olan *T. rubrum* ve *T. tonsurans*'ın kıl ve tüylerin keratin tabakasına başarıyla adapte oldukları; insanlara, enfekte hayvanlardan, topraktan ve diğer insanlardan direkt veya indirekt temas yollarıyla kolaylıkla bulaşabildikleri bildirilmektedir (Brilhante ve ark., 2003; Chinelli ve ark., 2003). Bu çalışmada, her iki etkenin de Van ve yöresindeki hayvanlardan yüksek oranlarda izole edilmiş olmaları (Tablo1, Tablo 2), bu bölgede dermatofitozisle mücadelede her iki patojenin de dikkate alınmalarının gerekli olabileceğini göstermektedir. Diğer yandan bu çalışmada, geofilik bir mantar olan *M. gypseum*'un örneklerden yüksek oranda (%17.5) üremiş olması, bu mantarın habitatının toprak olması ve incelenen hayvanların toprak ile yoğun temas halinde olmalarıyla açıklanabilir.

Gerçekleştirilen bu projde, incelenen hayvan türlerinden değişik cinslerde farklı kontaminant mantarlar da (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. ve *Scapulariopsis* spp.) izole edildi. Toprak orijinli bu

saprotitler çeşitli şekillerde sağlıklı hayvanların kıl, tüy ve derilerine bulaşarak, uygun şartlar oluştuğunda bazı hastalıklara da neden olmaktadır. Diğer yandan bu araştırmada, bazı örneklerden patojen dermatofit ve saprafilt mantarların birlikte izole edilmiş olması, Mbata (2009)'nın bulgusuyla benzerlik göstermektedir.

Dünyanın farklı bölgelerindeki çeşitli hayvan türlerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde, dermatofitozise neden olan türlerin ve enfeksiyonun prevalansının coğrafik şartlara bağlı olarak önemli düzeylerde değişiklikler gösterdiği görülmektedir. Konuyla ilgili ülkemizde bazı çalışmalar yapılmış olmakla birlikte, Van ve yöresinde gerek memeli gerekse kanatlı evcil veya yabani hayvanlarda herhangi bir çalışmanın yapılmadığı görülmektedir. Sonuç olarak, gerçekleştirilen bu projeye Van ve yöresindeki bazı evcil hayvan türlerinde dermatofit türleri ilk kez ortaya konuldu. Bu bulgulardan hareketle, yörede insan ve hayvanlarda yapılacak benzer çalışmalar ve dermatofitozisle mücadele programlarında, izole edilen bu etkenlerin de dikkate alınması faydalı olacaktır. Diğer yandan hayvanlardan bazı zoofilik ve yüksek patojen dermatofitlerin izole edilmesi, yöredeki evcil hayvanların periyodik aralıklarla kontrol edilerek, tedavi dahil diğer koruyucu önemlerin zamanında alınması, halk sağlığına önemli katkılar sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2011-SBE-YL021 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aghamirian MR, Ghiasian SA (2009).** Dermatophytes as a cause of epizoonoses in dairy cattle and humans in Iran: Epidemiological and clinical aspects. *Mycoses*. e52-e56.
- Alpun G, Özgür NY (2009).** Mycological examination of *Microsporum canis* infection in suspected dermatophytosis of owned and ownerless cats its aseptomatic carriage. *J Anim Vet Adv*. 8(4), 803-806.
- Arda M (2006).** Temel Mikrobiyoloji, s: 315-367, Medisan Yayınları, Ankara, Türkiye.
- Ateş A (2007).** Trichophyton rubrum'un Trichophyton mentagrophytes'ten Ayırt Edilmesinde Kullanılan Tanı Testlerinin Karşılaştırılması. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Bernardo F, Lança A, Guerra MM, Martins HM (2005).** Dermatophytes isolated from pet, dogs and cats, in Lisbon, Portugal (2000-2004). *RPCV*, 100, 85-88.

- Brilhante RSN, Cavalcante CSP, Soares-Junior FA, Cprdeiro RA, Sidrim JJC, Rochal MFG (2003).** High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: Epidemiological and diagnostic features. *Mycopathol*. 156, 303-308.
- Cabañes FJ (2000).** Dermatophytes in domestic animals. *Micologia*. 17, 104-108.
- Chermette R, Ferreira L, Guillot J (2008).** Dermatophytoses in animals. *Mycopathol*. 166, 385-405.
- Chinelli PAV, Sofiatti AA, Nunes RS, Martins JEC (2003).** Dermatophyte agents in the city of Sao Paulo, from 1992 to 2002. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 45(5), 259-263.
- Çiftci A, İca T, Sareyyüpoğlu B, Müştak HK (2005).** Kedi ve köpek dermatofitozlarından izole edilen mantarların retrospektif değerlendirilmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 52, 45-48.
- English MP, Morris P (1969).** Trichophyton mentagrophytes var. erinacei in hedgehog nests. *Sabouraudia*. 7, 118-121.
- Khosravi AR, Mahmoudi M (2003).** Dermatophytes isolated from domestic animals in Iran. *Mycoses*. 46, 222-225.
- Larone DH (2011).** Medically Important Fungi: A Guide to Identification, American Society for Microbiology. pp: 1-485, 5th Edit., ASM Press, Washington, USA.
- Mbata TI (2009).** Dermatophytes and other skin mycoses found in featherless broiler toe webs. *S J P H*, 4(4), 339-342.
- Moriello KA (2004).** Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: Review of published studies. *Vet Dermatol*. 15, 99-107.
- OIE (2005).** Dermatophytosis. <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/dermatop.pdf> Erişim tarihi: 01.06.2013.
- Pandey A, Pandey M (2013).** Isolation and characterisation dermatophytes with tinea infections at gwalior (m.p.), India. *IJPI*, 2(2), 5-8.
- Pier AC, Smith JMB, Alexious H, Ellis DH, Lund A, Pritchard RC (1994).** Animal ringworm—its aetiology public health significance and control. *J Med Vet Mycol*. 32 (1), 133-150.
- Prado MR, Brilhante RSN, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sidrim JJC, Rocha MFG (2008).** Frequency of yeasts and dermatophytes from healthy and diseased dogs. *J Vet Diagn Invest*. 20, 1997-2002.
- Ranganathan S, Balajee SAM, Raja SM (1998).** A survey of dermatophytosis in animals in Madras, India. *Mycopathol*. 140, 137-140.
- Sargison ND, Thomson JR, Scott PR, Hopkins G (2002).** Ringworm caused by *Trichophyton verrucosum* an emerging problem in sheep flocks. *Vet Rec*. 150, 755-756.
- Şeker E, Doğan N (2011).** Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytosis in Western Turkey. *Prev Vet Med*. 98, 46-51.
- Tel OY, Akan M (2008).** Kedi ve köpeklerden dermatofitlerin izolasyonu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 55, 167-171.
- Thrusfield M (1986).** Serological Epidemiology. In Veterinary Epidemiology. pp: 175-186, Butterworths Co. London, UK,
- Yahyaraeyat R, Shokri H, Khosravi AR, Soltani M, Erfanmanesh A, Nikain D (2009).** Occurrence of animals dermatophytosis in Tehran, Iran. *World J Zool*. 4 (3), 200-204.



Mallophaga Species in the Chickens of Mardin Province

Abdullah DÖNER¹ Mehmet YAMAN²

¹ Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Amasya Province Directorate of Food Control Laboratory, Amasya, Turkey

² University of Mustafa Kemal, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Antakya, Hatay, Turkey

Received: 18.08.2014

Accepted: 06.11.2014

SUMMARY

This study was performed in order to determine the distribution and spreading of Mallophaga species on chicken breeding in caves or henhouse existing garden of houses in the 5 district of Mardin with different characteristics (Central, Yeşilli, Midyat, Savur, Nusaybin). For one year in each district 10 chicken selected from 10 determined henhouses. Totaly, 2112 lice were obtained from the whole body of the chicken by pouring carbaryl powder (Sevitox, Hektaş). After transparent with 10% KOH, lice were mounted with Faure forte and identified under a binocular light microscope. Out of 392 of 600 chicken (%65) from the province of Mardin were found to be infested with lice. The most common lice was *M. stramineus* (68.9%) in all the studied focus, and followed by *M. gallinae* (17.2%) and *M. cornutus* (11.2%). *Cuclotogaster heterographus* (2.1%), and *G. hologaster* (0.5%) were caught in relatively small amounts. All of the collected lice, females (59.6%) were found more than males (40.4%). High rate Mallophaga infestation seen in the chicken of the province of Mardin and specially the Amblyceran lice species, mainly *M. stramineus* reported to be very active and pathogenic were commonly seen, it is important for economically losses depending on death and losing of product. For this reason, against lice infestation in chicken should be tackled with an appropriate insecticide and poultry breeding should be required consciously applications being important for the people of the region. This study is important for the first report on the aspect of the chicken lice of Mardin region.

Key Words: Chicken, Lice, Mallophaga, Mardin

ÖZET

Mardin ve Yöresi Tavuklarında Mallophaga Türleri

Bu çalışma Mardin'in farklı özelliklere sahip 5 ilçesinde (Merkez, Yeşilli, Midyat, Savur, Nusaybin) evlerin bahçelerindeki kümeslerde veya kümes olarak kullanılan mağaralarda yetiştirilen tavuklarda bitlerin yayılışı ve türlerinin tespiti amacıyla yapılmıştır. Bir yıl süreyle gidilen her bir ilçede belirlenen 10 kümeden 10'ar tavuk seçilerek tüm vücutlarına 5 g carbaryl toz (Sevitox, Hektaş) dökülerek toplam 2112 adet bit elde edilmiştir. Yüzde 10'luk KOH ile şeffaflaştırıldıktan sonra Faure forte ile lama yapıştırılan bit preparatları binoküler ışık mikroskopunda incelenerek tür teşhisleri yapılmıştır. Mardin ve yöresinde incelenen 600 tavuğun 392'sinin (%65) bitlerle enfeste olduğu tespit edilmiştir. *Menacanthus stramineus* (%68.9) tüm çalışma odaklarında rastlanan en yaygın bit türü olup, bunu *Menapon gallinae* (%17.2) ve *M. cornutus* (%11.2) izlemiştir. *Cuclotogaster heterographus* (%2.1) ve *Goniocotes hologaster* (%0.5) oranında yakalanmıştır. Toplanan bitlerin içerisinde dişiler (%59.6) erkeklerden (%40.4) fazla bulunmuştur. Mardin yöresi tavuklarında Mallophaga enfestasyonlarının yüksek oranda görülmesi, özellikle oldukça hareketli ve patojen olduğu bildirilen *M. stramineus* başta olmak üzere Amblyceran bit türlerinin yaygın görülmesi verim kayıpları ve ölümlere bağlı ekonomik kayıplar oluşturması yönünden önemlidir. Bu nedenle bölge halkı için önem taşıyan tavuklarda bit enfestasyonlarına karşı uygun bir insektisitle mücadele edilmesi ve yetiştiriciliğin bilinçli yapılması gerekmektedir. Bu çalışma Mardin yöresinde tavuk bitleri üzerine yapılan ilk çalışma olması yönüyle önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Tavuk, Bit, Mallophaga, Mardin

GİRİŞ

Türkiye ekonomisinde tavuk yetiştiriciliğinin önemli bir yeri vardır. TÜİK verilerine göre, 2012 yılı itibarı ile Türkiye'de 237.814.000 adet tavuk yetiştirilmekte olup, bunların 158.957.000 adedi et tavuğu ve 78.917.000 adedi ise

yumurta tavuğudur. Özellikle kırsal kesimde yaşayan aileler ahırlarda ve derme çatma ufak kümeslerde tavuk yetiştiriciliği yapmaktadırlar. Bu tür yetiştiricilik endüstriyel üretimle kıyaslandığında küçük görünse de yetiştiricilik yapan ailelerin geçiminde önemli bir yer

tutmaktadır (Aldemir 2004).

Tavuklarda ektoparazit enfestasyonları sık görülmektedir. Bunlar arasında pireler, argasid keneler, *Dermanyssus gallinae* ile knemidocoptik uyuzların yanısıra 25'ten fazla tüy yiyici Mallophaga biti önemli yer tutmaktadır (Oruç ve Bıçek 2009). Tavuklarda bitlerin varlığı ciddiye alınmadığından oluşturdıkları aşırı irritasyon ve stress önemli sağlık sorunlarına ve verim kayıplarına neden olmaktadır (Mimioğlu 1973, Aldryhim 1991, Dik ve ark. 1999, Khan ve ark. 2003, Aldemir 2004, İpek ve Şaki 2009, Oruç ve Bıçek 2009).

Tavuklarda ektoparazit olarak yaşayan bitlere karşı etkili bir mücadele verilebilmesi ve maddi kayıpların önüne geçilebilmesi için öncelikle bu hayvanlarda yaşayan bit türlerinin tespit edilmesi gerekmektedir. Türkiye'de tavuk bitleriyle ilgili epidemiyolojik çalışmalar oldukça sınırlıdır (Mimioğlu 1952, Güralp ve Doğru 1966, Dik ve ark. 1999, Köroğlu ve ark. 1999, Aldemir 2004, Oruç ve Bıçek 2009, İpek ve Şaki 2009). Bu çalışma Mardin yöresi tavuklarında bitlerin yayılışını tespit amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Mardin; Güneydoğu Anadolu Bölgesinin Yukarı Mezopotamya havzasında bulunan, güneyinde Suriye, doğusunda Şırnak ve Siirt, kuzeyinde Diyarbakır ve Batman, batısında Şanlıurfa ile çevrili bir ilimizdir. İklim olarak Akdeniz iklimi ile karasal iklimin ortak özelliklerine sahiptir. Doğusu kara ikliminin, batısı ise daha çok Akdeniz ikliminin etkisindedir. Halkın büyük kısmı kırsal kesimde bölgeye has taştan evlerde yaşamaktadır (Anonim 2011).

Bu çalışma Eylül 2011-Temmuz 2012 tarihleri arasında (Mardin'in 5 ilçesinde (Merkez, Yeşilli, Midyat, Savur, Nusaybin) yapılmıştır. Araştırmanın yapılacağı ilçelerin seçimi yükselti ve iklimsel farklılıklar gibi özellikler göz önünde tutularak yapılmıştır. Savur ilçesi Akdeniz iklimine, Nusaybin ve Midyat daha çok karasal iklim yapısına sahiptir. Yeşilli ilçesinin vadiye kurulmuş olması, Midyat ilçesinin merkezden uzak ve bölgenin yaylası olması nedeniyle farklı özelliklere sahiptir. Çalışılan bölgelerde evlerin altları veya yakın kısımlarında kayalar oyularak bir kısmında gıdaların saklandığı kilerler bir kısmında ise hayvanların bakıldığı ahırlar oluşturulduğu görülmüştür. Çalışmanın materyalini evlerin bahçelerindeki derme çatma kümesler ile ahır olarak kullanılan mağaralarda yetiştirilen tavuklar oluşturmuştur. Bu amaçla her bir ilçede belirlenen 10

küme rastgele seçilen 10 tavuk bitler yönünden incelenmiştir.

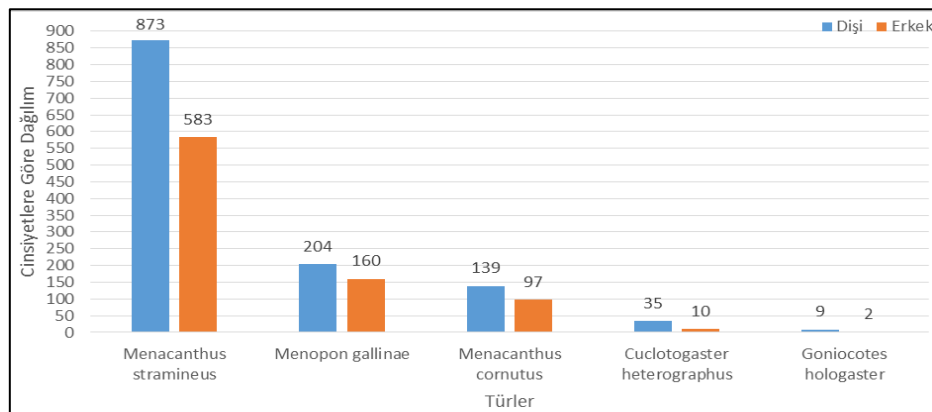
Beş g carbaryl toz (Sevitox, Hektaş) dökülerek bütün vücudu ilaçlanan tavuklar beyaz kâğıt serilmiş kutularda 45-60 dakika süreyle tutulmuştur. Kutudan çıkarılmaları esnasında eller hafifçe vücut, tüy ve teleklere üzerinde gezdirilerek üzerlerinde kalan ektoparazitlerin dökülmesi sağlanmıştır. Kutuların altına serilen beyaz kâğıtlara dökülen bitler küçük naylon poşetlere konularak protokol numarası verilmiştir. Protokol defterine her protokol numarası için ilgili barınağın özellikleri, yer ve zaman, hava sıcaklığı, ailenin ekonomik durumu gibi bilgiler yazılmıştır.

Toplanan materyal %70'lik etil alkol bulunan cam şişelere konularak üzerlerine ilgili barınağın protokol numarası yapıştirilip muhafaza edilmiştir. Daha sonra 24 saat süreyle %10'luk KOH içerisinde şeffaflaştırılan bitler 24 saat distile su içerisinde bekletilmiştir. Sonra sırası ile %70, %80 ve %96'lık etil alkolden geçirilerek suyu alınmıştır. Bitler Faure forte solüsyonu ile lamlara yapıştırıldıktan sonra 42 °C deki etüvde 4 gün süre ile bekletilerek kurutulmuştur. Mallophaga'ların tür teşhisleri ilgili kaynaklar yardımıyla (Ansari 1946, Fairchild ve Dahm 1954, Mimioğlu 1973) binoküler ışık mikroskopunda yapılmıştır.

Çalışma kapsamında alt gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların belirlenmesinde öncelikle verilerin normal dağılıma uygunluk testleri yapılmış ve daha sonra çoklu grupların karşılaştırılmasında verilerin özelliğine göre tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Kruskal-Wallis testlerinden yararlanılmıştır.

BULGULAR

Mardin ve yöresinde incelenen 600 tavuğun 392'sinin (%65) bitlerle enfeste olduğu tespit edilmiştir. Bir yıl boyunca tavuklardan 2112 adet bit toplanmıştır. Enfeste tavuklarda *Menacanthus stramineus*, *M. cornutus*, *Menopon gallinae*, *Cuclotogaster heterographus* ve *Goniocotes hologaster* olmak üzere beş türün varlığı tespit edilmiştir. *Menacanthus stramineus* (%68.9) tüm çalışma odaklarında en yaygın bit türü olup, bunu sırasıyla *M. gallinae* (%17.2), *M. cornutus* (%11.2), *C. heterographus* (%2.1) ve *G. hologaster* (%0.5) izlemiştir. Toplanan bitlerin içerisinde tüm türler açısından dişiler (%59.6), erkeklere göre (%40.4) daha yüksek oranda görülmüştür (Erkek/Dişi oranı: 1/1.47) (Şekil 1).



Şekil 1. Mardin yöresi tavuklarında tespit edilen bit türlerinin cinsiyetlere göre dağılımı

Figure 1. Lice species detected in chicken of Mardin region according to gender distribution

Tablo 1. Toplanan bit türlerinin yerleşim odaklarına göre dağılımı**Table 1.** The distributions of lice species collected according to located places

Çalışma Merkezleri	Örneklenen Hayvan Sayıları		<i>M. stramineus</i>		<i>M.gallinae</i>		<i>M.cornutus</i>		<i>C. heterographus</i>		<i>G. hologaster</i>		Toplam	
	M.E.	E.B.	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Mardin Merkez	95	84	304	62.8	85	17.6	81	16.7	14	2.9	-	0	484	100
Midyat**	265	141	565	64.2	208	23.6	82	9.4	20	2.2	5	0.6	880	100
Yeşilli	95	64	240	77.6	21	6.8	42	13.6	5	1.6	1	0.4	309	100
Savur	66	42	154	84.6	10	5.5	14	7.7	2	1.1	2	1.1	182	100
Nusaybin	79	61	193	75.1	40	15.6	17	6.6	4	1.5	3	1.2	257	100
Toplam	600	392	1456	68.9	364	17.2	236	11.2	45	2.1	11	0.5	2112	

*p < 0.05 **p < 0.01 ; M.E. : Muayene Edilen Hayvan Sayısı; E.B. : Enfeste Bulunan Hayvan Sayısı; n: Bit sayısı

Tablo 2. Mardin yöresi tavuklarında bulunan bit türlerinin dağılımı**Table 2.** The distributions of lice species collected in Mardin province

Bit Türleri					Enfekte Tavuk Sayısı	Enfestasyon Oranı %
1 türle enfeksiyon	2 türle enfeksiyon	3 türle enfeksiyon	4 türle enfeksiyon	5 türle enfeksiyon		
<i>M.stramineus</i>					46	11.7
<i>M.stramineus</i>	<i>M. gallinae</i>				60	15.3
<i>M.stramineus</i>	<i>C. heterographus</i>				16	4.1
<i>M.stramineus</i>	<i>M. cornutus</i>				14	3.6
<i>M.stramineus</i>	<i>M. gallinae</i>	<i>M. cornutus</i>			69	17.6
<i>M.stramineus</i>	<i>M. gallinae</i>	<i>G. hologaster</i>			49	12.5
<i>M.stramineus</i>	<i>M. gallinae</i>	<i>C. heterographus</i>			31	7.9
<i>M.stramineus</i>	<i>M. gallinae</i>	<i>C. heterographus</i>	<i>M. cornutus</i>		102	26
<i>M.stramineus</i>	<i>M. gallinae,</i>	<i>C. heterographus</i>	<i>G. hologaster</i>	<i>M. cornutus</i>	5	1.2
X ±SD					43.55±30.91	

Tablo 3. Mardin yöresi tavuklarında bulunan bit türlerinin aylara göre dağılımı**Table 3.** The distributions of lice species collected in Mardin region according to months

Mevsimler	Aylar	Toplanan Bitler	%	p- Değeri	<i>M. stramineus</i>	<i>M. gallinae</i>	<i>M. cornutus</i>	<i>C. heterographus</i>	<i>G. hologaster</i>
Sonbahar	Eylül	82	3.9	P < 0.05	71	12	-	-	0
	Ekim	87	4.1		62	11	12	2	0
	Kasım	79	3.7		45	20	11	3	0
Kış	Aralık	67	3.2		34	18	12	3	0
	Ocak	0	0		0	0	0	0	0
	Şubat	101	4.8		54	21	23	2	1
İlkbahar	Mart	252	11.9		154	45	38	12	3
	Nisan	439	20.7		289	91	41	14	4
	Mayıs	571	27		400	106	53	9	3
Yaz	Haziran	346	16.4		289	31	26	0	0
	Temmuz	41	2	12	9	20	0	0	
	Ağustos	47	2.2	46	0	0	0	0	
Toplam		2112	100		1456	364	236	45	11

En yüksek enfestasyon oranı il merkezinde (%88,4) tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla Nusaybin (%77.2), Yeşilli (%67.4), Savur (%63.6) ve Midyat (%53.2) İlçeleri izlemiştir. Çalışma kapsamında örneklenen kümes ve mağaralardan toplanan bit türlerinin yerleşim odaklarına göre dağılımlarının anlamlı bir farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Analiz sonucunda p < 0.01 düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğu ve bunun da Midyat

ilçesinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Diğer 4 ilçe arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 1).

Mardin yöresinde tavuklarda bulunan bit türlerinin tek ya da miks olarak dağılımları Tablo 2'de verilmiştir. En yüksek enfestasyon oranına sahip olan *M. stramineus* tek olarak 46 (%11.7), miks olarak 392 (%88.2) tavukta bulunmuştur. Diğer türler; *M. gallinae* 316 (%80.5), *M. cornutus* 190 (%48.4), *C. heterographus* 154(%39.2) *G.*

hologaster 54 (%13.7) tavukta miks olarak tespit edilmiştir.

Araştırma süresince en yüksek enfestasyona Mayıs ayında rastlanmış ve bunu Nisan ayı izlemiştir. Mardin yöresi tavuklarında Ocak ayında görülmeyen bit enfestasyonları Şubat ayından itibaren katlanarak artmış, en yüksek bit enfestasyonuna Mayıs ayında rastlanmıştır. Mart, Nisan, Mayıs aylarında sayıca artış gösteren *M. stramineus*, *M. gallinae* ve *M. cornutus* türlerinde, yaz ve sonbahar aylarında keskin bir düşüş gözlenmiştir. *Cuclotogaster heterographus* yaz aylarında, *G. hologaster* yaz ve sonbahar aylarında görülmemiştir. Bit enfestasyonlarının varlığı mevsimsel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılığa rastlanmıştır ($p < 0.05$). Farklılığın hangi gruptan ileri geldiği incelendiğinde (scheffe post-hoc test) bu durumun bahar ve kış ayları arasındaki farklılıktan ileri geldiği görülmüştür (Tablo 3).

Evlerin bahçelerindeki derme çatma tavuk kümeslerinden toplanan bitler, kümes olarak kullanılan bölgeye has mağaralardan toplananlardan fazla (1/1.4) bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. Barınak türlerine göre toplanan bitlerin dağılımı

Table 4. The distributions of lice species collected according to shelter type

Barınak	Odak	Toplanan Bit	Odak başına düşen bit
Derme çatma kümesler	35	1619	46.26
Kümes olarak kullanılan mağaralar	15	493	32.86

Tavuklar üzerinden toplanan bitlerin uzunluk ölçümleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Mardin yöresi tavuk bitlerinin büyüklük ölçüleri

Table 5. Size of lice species in mardin province

Türler	Dişi (mm)	Erkek (mm)
<i>M. stramineus</i>	2.8 x 0.9	3.2 x 0.7
<i>M. gallinae</i>	1.8 x 0.6	1.7 x 0.6
<i>M. cornutus</i>	1.9 x 0.7	1.5 x 0.6
<i>C. heterographus</i>	2.1 x 0.8	2.2 x 0.5
<i>G. hologaster</i>	1.4 x 0.6	1.1 x 0.5

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tavuklarda Mallophaga enfestasyonlarıyla ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olup, bu çalışmalar neticesinde dünyada 12 farklı tür belirlenmiştir. Bunlar *M. stramineus*, *M. cornutus*, *M. pallidulus*, *M. gallinae*, *Goniocotes gallinae*, *G. hologaster*, *G. microthora*, *Goniodes dissimilis*, *G. gigas*, *G. pavonis*, *Cuclotogaster* (=Lipeurus) *heterographus*, *L. caponis*, *L. tropicalis* ve *Colpocephalum turbinatum* türleridir (Ansari 1946, D'Souza ve ark. 1982, Aguirre-Uribre ve ark. 1991, Aldryhim 1991, George ve ark. 1992, De Figueiredo ve ark. 1993, Gabaj ve ark. 1993, Khan ve ark. 2003, Prelezov ve Koinarski 2006, Sychra ve ark. 2008, Salam ve ark. 2009, Mekuria ve Gezahegn 2010). Türkiye'de tavuklarda bugüne kadar 8 Mallophaga türü tespit edilmiştir. Bunlar *M. stramineus*, *M. cornutus*, *M. gallinae*, *C. heterographus*, *L. caponis*, *G. hologaster*, *G. gigas* ve *G. dissimilis* türleridir (Mimioğlu 1952, Güralp ve Doğru 1966, Dik ve ark. 1999, Köroğlu ve ark.1999, Aldemir 2004, Oruç ve Biçek 2009, İpek ve Şaki 2009). Türkiye'de bildirilen *L. caponis*, *G. gigas*

ve *G. dissimilis* türlerine Mardin yöresinde yaptığımız araştırmada rastlanmamıştır.

Türkiye'nin farklı il ve ilçelerinde (Mimioğlu 1973), Ankara (Güralp ve Doğru 1966), Konya (Dik ve ark. 1999), Elazığ (Köroğlu ve ark. 1999), Kars (Aldemir 2004), Van (Oruç ve Biçek 2009) ve Diyarbakır'da (İpek ve Şaki 2009) yapılan çalışmalarda tavuklar %39.6 - 67.5 arasında bitlerle enfeste bulunmuştur. Mardin ve yöresinde incelenen tavukların % 64.5 gibi yüksek bir oranda bit enfestasyonu tespit edilmiştir. Enfeste tavuklarda *M. stramineus*, *M. cornutus*, *M. gallinae*, *C. heterographus* ve *G. hologaster* olmak üzere beş türün varlığı tespit edilmiştir. Toplama metodunun farklılığından kaynaklandığını düşündüğümüz bir çalışmayı (Oruç ve Biçek 2009) hariç tutarsak, Dünya'da (D'Souza ve ark. 1982, Aguirre-Uribre ve ark. 1991, Aldryhim 1991, George ve ark. 1992, De Figueiredo ve ark. 1993, Gabaj ve ark. 1993, Prelezov ve Koinarski 2006, Sychra ve ark. 2008, Salam ve ark. 2009, Mekuria ve Gezahegn 2010) ve Türkiye'de (Mimioğlu 1952, Güralp ve Doğru 1966, Dik ve ark. 1999, Köroğlu ve ark.1999, Aldemir 2004, Oruç ve Biçek 2009, İpek ve Şaki 2009) yapılan çalışmalara benzer şekilde bu çalışmada da enfeste tavukların tamamında *M. stramineus* (%68.9), *M. gallinae* (%17.2), *M. cornutus* (%11.2) gibi Amblyceran bit türlerine yüksek oranda (%97.3) rastlanmıştır. Sızan kanı emebilmesi, hızlı hareket ettiği için hayvanları aşırı strese sokmaları nedeniyle en patojen türlerden sayılan Amblyceran türlerine (Mimioğlu 1973, İpek ve Şaki 2009) yüksek oranda rastlanması kanatlılarda oluşabilecek verim kayıpları açısından gözardı edilemeyecek önemli bir bulgudur. Ayrıca bu çalışma Mardin yöresinde tavuk bitleri üzerine yapılan ilk çalışma olması yönüyle önemlidir.

Güneyde Suriye'den gelen sıcak hava akımları Merkez ve Nusaybin'in sıcaklık farkını diğer ilçelere göre 3-5 °C artırmaktadır. Bu nedenle hava sıcaklığının daha yüksek seyrettiği il merkezi (%88.4) ve Nusaybin'de (%77.2) bitlerin enfestasyon oranı sayıca fazla görülmüştür. Yeşilli (%67.4) ve Savur (%63.6) vadi arasında, Midyat (%53.2) ise yüksekçe bir yerdir ve bölgenin yaylası olarak bilinmektedir. Bitlerin enfestasyon oranındaki bu farklılıkların ilçeler arasındaki sıcaklık farklılıklardan kaynaklandığı düşünülebilir. Toplanan bitlerin yerleşim odaklarına göre dağılımları incelendiğinde Midyat ilçesinde $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir farklılık belirlenmiştir (Tablo 1). Bu sonuç seçilen örneklemin görece olarak daha küçük olmasından ve paraziter mücadele ve barındırma koşulları yönüyle yöresel farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

Mardin yöresi tavuk bitlerinin büyüklükleri Mimioğlu'nun (1973) ölçümleriyle karşılaştırıldığında *G. hologaster* türü benzer, *M. stramineus*, *M. gallinae* ve *M. cornutus* türlerinin erkek ve dişileri ortalama 0.2 mm daha küçük bulunmuştur. *Cuclotogaster heterographus* türünün dişileri daha küçük bulunurken, erkekleri boy yönünden büyük (2.1 x 0.8: 2.8 x 1.1), en yönünden ise küçük (2.2 x 0.6: 1.8 x 0.9) bulunmuştur. Bitlerin büyüklükleri yönünden ortaya çıkan farklılıklar oldukça küçük olup bu farklılıklar, Mimioğlu'nun ölçümlerini daha çok Türkiye'nin değişik illerinden toplanan bitlerin oluşturmasına ve ayrıca incelenen bitlerin iklim, barınma, beslenme çevre gibi birçok faktörden etkilenmiş olmalarına bağlanabilir.

Marshall (1981) bitler gibi kalıcı ektoparazitlerde cinsiyet oranının vücutta bulunduğu yere, mevsime ve nüfus yoğunluğuna bağlı olarak değişebileceğini belirtmektedir. Araştırmacı bitlerde çoğunlukla dişilerin erkeklerden fazla görüldüğünü, ötücü kuşların bitlerinde ise erkeklerin yok

denecek kadar az olduğunu bildirmektedir. Bunun aksine Clayton ve ark (1992) Eschnoceran bitlerde dişilerin, Amblyceran bitlerde ise erkeklerin dişilerden fazla olmaya meyilli olduğunu belirtmiştir. Ancak gerek bu çalışmada, gerekse diğer epidemiyolojik çalışmalara (Prelezov ve Koinarski 2006, İpek ve Şaki 2009, Mekuria ve Gezahegn 2010) benzer şekilde Amblyceran bitlerin dişileri erkeklerden daha fazla bulunmuştur (Şekil 1). Mardin ve yöresi tavuklarında %97.3 gibi büyük bir oranda rastlanan Amblyceran türlerin erkek dişi oranı *M. stramineus* (1:1.5), *M. cornutus* (1:1.4), *M. gallinae* (1:1.3) olmak üzere ortalama 1:1.47 bulunmuştur. Bu bulgular Amblyceran bit türlerinin cinsiyet oranlarıyla ilgili Etiyopya (Mekuria ve Gezahegn 2010) ve Bulgaristan'dan (Prelezov ve Koinarski 2006) bildirilen oranlara benzer, Diyarbakır'dan bildirilen oranlardan (İpek ve Şaki 2009) ise (sırasıyla 1:4.1:4.1:1.5) farklı bulunmuştur.

Sıcaklık ve yakın temas bitlerin üremelerini etkileyen bir dinamiktir (Güralp ve Doğru 1966, De Figueiredo 1993, Köroğlu ve ark. 1999). Nitekim bu çalışmada evlerin bahçelerindeki derme çatma tavuk kümeslerinden toplanan bitler, kümes olarak kullanılan bölgeye has mağaralardan toplananlardan fazla bulunmuştur. Bunun nedeni muhtemelen oldukça geniş olan mağaralarda tavuklar arasındaki temasın ve ortam sıcaklığının bahçe kümeslerine oranla daha az olmasıdır.

Yaşamlarının tamamını aynı tür konak üzerinde geçirdiklerinden, konağın bakım, beslenme ve hormonal değişimleri ile bulunduğu ortamdaki mikroklimatik değişimler bitlerin popülasyonlarında artmaya veya azalmaya neden olmaktadır. Kış aylarında hayvanların üzerindeki bit popülasyonları hayvanlarda yakın temasın artmasına, mikroklima ve ortamın ısı değişimine bağlı olarak kışın son ayları ve erken ilkbaharda artmaktadır (De Figueiredo 1993, Köroğlu ve ark. 1999, Johnson ve Clayton 2003). Köroğlu ve ark. (1999) Elazığ yöresi tavuklarında en yüksek bit enfestasyonunun Aralık ayında görüldüğünü, bunu Nisan, Mayıs ve Haziran aylarının izlediğini bildirmişlerdir. Mardin yöresinde bit enfestasyonlarının varlığı istatistiki olarak incelendiğinde bahar ve kış ayları arasındaki anlamlı bir farklılığa rastlanmıştır (Tablo 3). Mardin yöresi tavuklarında Aralık ayında az sayıda rastlanan bitler Ocak ayında bulunamamıştır. Şubat ayından itibaren görülen bit enfestasyonları katlanarak artmış, en yüksek bit enfestasyonuna Mayıs ayında rastlanmıştır. Haziran ayından itibaren sayıları yaklaşık yarıya düşen bitler, Temmuz-Aralık ayları arasında farkedilir bir düşüş göstermişlerdir. Buna göre Mardin yöresinde bit popülasyonlarının kışın son ayları ve ilkbaharda, hatta Haziran ayında fazla görülmüştür. Literatür bilgilere kıyasla ortaya çıkan bu farklılık Mardin yöresinde hava şartlarının daha ılıman seyretmesinden, hayvanların barındırıldıkları ortamın mikroklima ve ısı farklılıklarından kaynaklanabilir. Ayrıca Mardin yöresinde yaz ve kış barınaklarda tavuklar geceleri barındırılmakta, gündüzleri ise dış ortama salıverildiklerinden bitlerin sayıca artışında barınaklardaki mikroiklim yanında, dış ortam sıcaklığının da etkili olduğunu söyleyebiliriz. Nitekim sıcaklığın - 5 °C'nin altına kadar düştüğü Ocak ayında tavuklarda bite rastlanmamış olması bakım alışkanlıklarının bir sonucu olabilir.

Bazı araştırmacılar yaz aylarında, bazı araştırmacılar da Şubat-Mayıs ayları arasında bit enfestasyonlarında aşırı artış görüldüğünü bildirmişlerdir (Köroğlu ve ark. 1999). Mardin yöresi tavuklarında *M. stramineus*, *M. gallinae* ve *M. cornutus* türleri Mart, Nisan, Mayıs aylarında sayıca artmış, Haziran ayında biraz düşmüş, yaz ve sonbahar aylarında

ise farkedilir bir düşüş gözlenmiştir. *Cuclotogaster heterographus* yaz aylarında, *G. hologaster* yaz ve sonbahar aylarında görülmemiştir. Brown (1970)'a atfen (Khan ve ark. 2003) *M. stramineus*'ün 37.7 - 41.5 °C arasında optimum gelişme gösterdiğini bildirmiştir. Bu bit türünün artış gösterdiği Mart-Haziran ayları arasında Mardin yöresinde hava sıcaklıkları ortalama 36-39°C derece arasında değişim göstermesi bu bulguyu doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile Mallophaga enfestasyonlarının Mardin yöresi tavuklarında yüksek oranda görüldüğü ortaya konmuştur. Bu durum hayvanların bilinçsiz yetiştirilmesinden ve hijyen kurallarına uyulmamasından kaynaklanmaktadır. Bu çalışma Mardin yöresinde tavukların bitleri üzerine yapılan ilk çalışma olması nedeniyle önemlidir. Yumurta veriminde düşmeler ve hatta ölümlere yol açtığı bildirilen ve oldukça patojen kabul edilen *M. stramineus*'a bölge tavuklarında yüksek oranda rastlanması ciddi ekonomik kayıplara neden olacağına bir kanıttır. Bölge halkı için önemli bir gelir ve besin kaynağı olan tavuklarda tespit edilen bit enfestasyonlarına karşı uygun bir insektisitle mücadele edilmesi ve yetiştiriciliğin bilinçli yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Aguirre-Urbe LA, Lozoya-Saldana A, Quinones-Luna S, Guerrero-Rodriguez E, Uribe LA (1991).** Mallophaga of domestic birds in southeastern Coahuila, Mexico. *Folia Entomol Mexicana*, 82, 93-105.
- Aldemir OS (2004).** Kars ilinde tavuklarda bulunan ektoparazitler. *Türkiye Parazit Derg*, 28, 154-157.
- Aldryhim YN (1991).** Mallophaga of the domestic chicken in the central, on production of the Saudi Arabian Baladi Hens. *Emir J Agric Sci*, 3, 143-150.
- Anonim (2011).** Mardin İli 2011 Yılı Çevre Durum Raporu. *Mardin Valiliği Çevre Ve Şehircilik İl Müdürlüğü*. Yayın no: 1 (www.csb.gov.tr/db/ced/editoridosya/mardin_icdr2011.pdf)
- Ansari MAR (1943).** Mallophaga found on domestic fowl, Gallus domesticus Linn., in the Punjab. *Indian J. Entomol*, 5(1 & 2), 1943:129-142.
- Clayton DR, Gregory D ve Price RD (1992).** Comparative ecology of neotropical bird lice (Insecta, Phthiraptera). *J Anim Ecol*, 61, 781-795.
- D'Souza PE, Jagannath MS (1982).** A note on the incidence of lice on fowls in and around Bangalore. *Cur Res Univ Agric Sci*. 11 (3/4), 40-41.
- De Figueiredo SM, Guimaraes JH, Gama NMSQ (1993).** The biology and ecology of Mallophaga (Insecta, Phthiraptera) *Vet*, 2 (1), 45-51.
- Dik B, Yaman M, Köse M, Gülbahçe S (1999).** Konya'da tavuklarda bulunan Mallophaga türleri. *Türkiye Parazit Derg*, 23, 327-30.
- Fairchild HE, Dahm PA (1954).** A taxonomic study of adult chicken lice found in the United States. *J. Kansas Ent. Soc*, 27 (3): 106-111.
- Gabaj MM, Beesley WN, Awan MAQ (1993).** Lice of farm animals in Libya. *Med Vet Entomol*, 7 (2), 138-140
- Güralp N, Doğru C. (1966).** Ankara ve çevresinde tavuklarda görülen dış parazitler ve bunların Neguvonla tedavisi. *Ank Üniv Vet Fak Derg*, 13, 299-305.
- İpek DNS, Şaki CE. (2009).** Diyarbakır ve yöresinde tavuklarda bulunan bit (Mallophaga) türleri ve bunların yayılışı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 2 (2), 64-68.
- Johnson KP, Clayton DH (2003).** The Biology, Ecology and Evolution of Chewing Lice, Illinois Natural History Survey publication, p. 449-476.
- Khan MN, Nadeem M, Iqbal Z, Sajid MS, Abbas RZ (2003).** Lice infestation in poultry. *Int J of Agr & Bio*, 5 (2), 213-216.
- Köroğlu E, Şaki CE, Aktaş M, Dumanlı N, Angın M (1999).** Elazığ ve yöresinde tavuklarda bulunan bit (*Mallophaga*) türleri ve bunların yayılışı. *Fırat Üniv Sağlık Bil Derg*, 13, 57-60.
- Marshall AG (1981).** The sex ratio in ectoparasitic insects. *Ecol Entomol*, 6, 155-174.
- Mekuria S, Gezahegn E (2010).** Prevalence of external parasite of poultry in intensive and backyard chicken farm at Wolayta Soddo Town, Southern Ethiopia, 2010. *Veterinary World*, 3(12), 533-538.
- Mimioglu M (1952).** Türkiye'de tavuklarda Mallophaga'lar (tavuk bitleri) ve en uygun mücadele metotları üzerinde araştırmalar, Ank Üniv Vet Fak Yay No:32, Ank Üniv Basımevi, s: 60.

- Mimioglu M (1973).** Veteriner ve Tıbbi Artropodoloji. Ank Ü Vet Fak Yayınları, 294/195 Ankara.
- Orunç Ö, Biçek K (2009).** Van yöresi tavuklarında parazitler fauna tespiti. *Türkiye Parazitol Derg*, 33 (2), 162-164.
- Prelezov PN, Koinarski VTS (2006).** Species variety and population structure of *Mallophaga (Insecta:Phthiraptera)* on chickens in region of Stara Zagora Bulgarian. *J Vet. Med*, 9, 193-200.

- Salam ST, Mir MS, Khan AR (2009).** Prevalence and seasonal variation of ectoparasite load in free-range chicken of Kashmir Valley. *Trop Anim Health Prod*, 41, 1371-1376.
- Sychra O, Harmat P, Literak I (2008).** Chewing lice (Phthiraptera) on chickens (*Gallus gallus*) from small backyard flocks in the Eastern Part of the Czech Republic. *Vet Parasitol*, 152, 344-348.



The Effect of Bitter Almond Oil on The Some Alterations in Liver Tissue of Experimental Diabetic Rats

Ersin DEMİR¹ Ökkeş YILMAZ²

¹Duzce University Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Department of Agricultural Biotechnology, Duzce, Turkey

²Firat University, Faculty of Science, Department of Biology, Elazig, Turkey

Received: 07.10.2014

Accepted: 25.11.2014

SUMMARY

The present study was designed to evaluate the impact of bitter almond oil on malondialdehyde, reduced glutathione, total protein, fatty acid composition, A, D, E and K vitamins, cholesterol and some sterols parameters in liver tissue of experimental diabetes in rats. The rats were divided into three groups: control (C) streptozotocin (STZ), streptozotocin+bitter almond oil (STZ+BAO) groups. Diabetes induced in rats by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg). 1 ml/kg the dose bitter almond oil was intraperitoneally injected twice in a week to the streptozotocin+bitter almond oil (STZ+BAO), and additionally 2 g/500 ml dose of bitter almond seed powder was added to the drinking water of these rats. The experiment continued for 8 weeks. It was observed that MDA and total protein levels were significantly increased ($p<0.001$), GSH level was significantly decreased ($p<0.001$), palmitic, palmitoleic and arachidonic acid ($p<0.05$) levels were significantly decreased ($p<0.001$), stearic and linoleic acid levels were significantly increased ($p<0.001$), α -linolenic and oleic and docosahexaenoic acid levels were not changed, δ -tocopherol and vitamin D₂ levels were significantly decreased ($p<0.001$), vitamins K₂, vitamin D₃ ($p<0.05$), α -tocopherol, retinol, vitamin K₁, cholesterol, stigmaterol and β -sitosterol levels were significantly increased ($p<0.001$) in the liver tissue of STZ group when compared to the control group. It was detected that MDA, GSH and total protein levels were significantly decreased ($p<0.001$), palmitoleic, linoleic, arachidonic ($p<0.05$) and α -linolenic acid levels were significantly decreased ($p<0.001$), stearic, oleic and docosahexaenoic acid levels were significantly increased ($p<0.001$), palmitic level was not changed, Vitamin K₂, δ -tocopherol, vitamin D₂, α -tocopherol, vitamin K₁ ($p<0.01$), β -sitosterol levels were significantly increased ($p<0.001$), vitamin D₃ level was significantly decreased ($p<0.001$), retinol, cholesterol and stigmaterol levels were not changed in the liver tissue of STZ+BAO group when compared to the STZ group. It was determined that the applied of bitter almonds oil was limited against the metabolic disorders of GSH, total protein, some fatty acid composition and A, D, E and K vitamins in the liver tissue of experimental diabetic rats.

Key Words: Vitamin, Cholesterol, Experimental Diabetes, Oxidative Stress, Sterols

ÖZET

Deneyisel Diyabetin Sıçan Karaciğer Dokusunda Oluşturduğu Bazı Değişiklikler Üzerine Acı Badem Yağının Etkisi

Bu çalışma, deneyisel diyabet oluşturulan sıçanlarda acı badem yağının karaciğer dokusunda yağ asidi bileşimi, malondialdehit, indirgenmiş glutatyon, total protein, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve bazı sterol parametreleri üzerinde etkisinin araştırılması için tasarlandı. Sıçanlar kontrol (K), streptozotosin (STZ) ve streptozotosin+acı badem yağı (STZ+ABY) olmak üzere üç grubu ayrıldı. STZ gruplarına intraperitoneal enjeksiyonla streptozotosin (45 mg/kg) verilerek diyabet oluşturuldu. Acı badem yağı grubundaki sıçanlara haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla acı badem yağı ve ayrıca deney boyunca toz haline getirilmiş 2 gr acı badem çekirdeği, 500 ml içme suyuna eklenerek verildi. Bu uygulamalar 8 hafta boyunca sürdü. Kontrol grubuna göre, STZ grubunun karaciğer dokusunda MDA ve total protein düzeyinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) arttığı, GSH düzeyinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) azaldığı, palmitik, palmitoleik, araşidonik asit ($p<0.01$) düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), stearik ve linoleik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$), oleik ve α -linolenik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinde istatistiksel açıdan önemli değişikliklerin olmadığı, δ -tokoferol ve vitamin D₂ düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), vitamin K₂, vitamin D₃ ($p<0.05$), α -tokoferol, retinol, vitamin K₁, kolesterol, stigmaterol ve β -sitosterol düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$) tespit edildi. STZ grubu ile karşılaştırıldığında, STZ+ABY grubunun karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) azaldığı, palmitoleik, linoleik, araşidonik ($p<0.05$) ve α -linolenik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), stearik, oleik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$), palmitik asit düzeyinde istatistiksel açıdan önemli değişikliklerin olmadığı, vitamin K₂, δ -tokoferol, vitamin D₂, α -tokoferol, vitamin K₁ ($p<0.01$), β -sitosterol düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$), vitamin D₃ düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), retinol, kolesterol ve stigmaterol düzeylerinde istatistiksel açıdan önemli değişikliklerin olmadığı belirlendi. Deneyisel diyabetin sıçanların karaciğer dokusunda GSH, total protein, bazı yağ asidi bileşimi ile A, D, E ve K vitaminleri üzerinde oluşturduğu metabolik düzensizliklere karşı uygulanan acı badem yağının etkisinin sınırlı kaldığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Vitamin, Deneyisel diyabet, Kolesterol, Oksidatif stres, Sterol

GİRİŞ

Pankreasın β -hücrelerinden salgılanan insülin miktarının azalması ile periferik dokularda insülin duyarlılığının bozulması hiperglisemiye yol açmakta, eğer gerekli önlemler alınmazsa bu durum hipergliseminin şiddetlenmesi ile sonuçlanmaktadır. Hiperglisemi ile insülin metabolizması arasında karmaşık bir ilişkinin bulunduğu, bütün bunların da diyabetin patogenezinde rol oynadığı sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Vücutta farklı metabolik yollarının koordineli regülasyonu ile kan glukoz düzeyi düzenlenmektedir fakat insülin metabolizmasının bozulması karbohidrat kullanan glukoneogenez ve glukoliz gibi metabolik yolların aktivitesinin bozulmasına yol açarak kanın glukoz homeostazının bozulmasına sebep olmaktadır (Ashokkumar ve Pari 2005).

Diyabet, dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. 2025 yılına kadar, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 300 milyon insanın diyabet hastası olacağını öngörmektedir (Dünya Sağlık Örgütü/Uluslararası Diyabet Federasyonu, 1999). Diyabet, Tip-1 (insüline bağımlı diyabet veya IDDM) ve Tip-2 (insüline bağımlı olmayan diyabet veya NIDDM) olmak üzere iki kategoriye ayrılan kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabetin görülme sıklığı sanayileşmiş ülkelerde hızla artmakta ve vakaların %90'ını Tip-2 diyabet oluşturmaktadır. İnsüline direnç, Tip-2 diyabetin karakteristik bir özelliğidir ve insülin duyarlılığını artırmak için çeşitli ilaçlar klinik olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, Tip-2 diyabet için halen mevcut olan ilaçların arzu edilmeyen etkilerinden dolayı yeni ilaçların keşfedilmesi için yapılan çalışmalara büyük önem verilmiştir. Yeni ilaçların geliştirilmesinde bitkiler önemli kaynak durumundadırlar (Oh ve ark. 2005).

Son zamanlarda diyabet ve diyabet komplikasyonlarının tedavisinde bitkiler ile bitkilerin sahip olduğu çeşitli aktif bileşiklerin kullanımına odaklanılmıştır. Bitkiler, eski zamanlardan beri insanoğlunun karşılaştığı çeşitli sağlık problemlerinin tedavisinde başvurdukları ilk kaynaklardır. Bitkisel ürünlere tüm dünyada artan bir talebin olması büyük ilaç firmalarını tıbbi değeri olan bitkiler üzerinde kapsamlı araştırmalar yapmaya itmiştir. Bitkiler ile bitkilerden elde edilen aktif bileşiklerin gerek klinik gerekse de deneysel çalışmalar yolu ile bazı hastalıklar üzerindeki etkilerine yönelik yapılan çalışmalarda umut verici sonuçlara ulaşılmış ve bu sonuçlar ciddi birçok bilimsel dergide kendine yer bulmuştur (Oh ve ark. 2005; Vasi ve Austin 2009; Kumar ve ark. 2012; Liu ve ark. 2013).

Kabuklu yemişler, doymamış yağ asitleri ile diğer biyolojik aktif bileşiklerin yoğun bir şekilde bulunduğu besin maddeleridir: sahip oldukları yüksek kaliteli bitkisel protein, lif, mineral, tokoferol, fitosterol ve fenolik bileşiklerin eşsiz bileşiminden dolayı insan sağlığına yararlı etkileri bulunmaktadır (Ros 2010; Keser ve ark. 2014a). Kabuklu yemiş tüketiminin ve özellikle de bademin, Tip-2 diyabet ve prediyabet olan kişilerde kan glukoz düzeyi üzerindeki yararlı etkilere sahip olmasının yanı sıra açlık kan glukoz, insülin, insülin duyarlılığı ve LDL-kolesterol seviyesi üzerinde de yararlı etkileri bulunduğu ifade edilmiştir (Cohen ve Johnston 2011; Li ve ark. 2011). Yapılan çalışmalarda bademin oksidatif stres ve DNA hasarına karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Jia ve ark. 2006). Acı bademin hipoglisemik özelliğe sahip olduğu ve oksidatif stres karşı koruyucu

özellik gösterdiği bildirilmiştir (Teotia ve Singh 1997; Demir ve Yılmaz 2014).

Bu çalışmada acı badem çekirdeklerinden elde edilen yağın deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara uygulanması sonucunda karaciğer dokusunda oksidatif stres, lipid peroksidasyon, kolesterol, yağ asidi bileşimi, A, D, E ve K vitaminleri ve sterol düzeyinde oluşan değişiklikler üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Deney hayvanları

Deneysel uygulamalar, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alınarak gerçekleştirildi (Etik karar no: 2011/81). Bu çalışmada 30 adet 8-10 haftalık Wistar albino ırkı erkek sıçanlar kullanıldı.

Deneysel diyabetin oluşturulması

Sıçanlar kontrol (K), streptozotosin (STZ) ve streptozotosin+acı badem yağı (STZ+ABY) olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı. Deneysel diyabet oluşturmak için STZ ve STZ+ABY grubunu oluşturan sıçanlara 45 mg/kg dozunda streptozotosin (STZ) fosfat-sitrat tamponunda (0.1 M, pH 4.5) çözülerek intraperitoneal enjeksiyonla verildi (Biswas ve ark. 2012). STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, gece açlığını takiben sıçanların kuyruk veninden kan örneği alınarak glukometre (Smart Chek) cihazında glukoz ölçümleri yapıldı. Bu ölçüm sonucunda, açlık kan glukoz düzeyi 140-200 mg/dl olan sıçanlar diyabet olarak kabul edildi (Dewanjee ve ark. 2009). Bu çalışma 8 hafta sürdü ve çalışma sonunda tüm sıçanlar servikal dekapitasyon yolu ile dekapite edilerek karaciğer dokuları hızlı bir şekilde alındı ve soğuk serum fizyolojikte yıkandıktan sonra analiz yapılmaya kadar -86°C de saklandı.

Bitki ekstraktının hazırlanması ve uygulanması: Acı badem çekirdekleri etüvde kurutulduktan sonra havanda dövülerek toz haline getirildi ve hekzan/izopropil alkol (3/2 v/v) karışımı ile blenderde parçalandı ve sonra bu homojenat santrifüj edildi (9050xg'de+4 °C). Santrifüj sonunda elde edilen supernatant rotavapor kullanılarak çözücülerden arındırıldı ve DMSO'da (dimetil sülfosoksit) çözülerek kullanıma hazır hale getirildi. Elde edilen yağ ekstraktı, STZ+ABY grubuna haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla verildi ve ayrıca deney boyunca toz haline getirilmiş acı badem çekirdekleri (2gr/500ml) içme suyuna eklenerek, sıçanlara bu su verildi. Bu süre zarfında Kontrol ve STZ gruplarına haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla DMSO uygulandı (Demir ve Yılmaz 2014).

Doku homojenatının hazırlanması: Grupların karaciğer doku örnekleri (1g), Tris-HCl, Trisbase ve EDTA (pH:7,4) tamponu ile homojenize edildikten sonra +4°C'de 9050x g'de 20 dakika (dk) santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Elde edilen supernatant kısımdan malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), total protein analizleri yapıldı. Pellet kısmından ise yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol analizi yapıldı (Demir ve Yılmaz 2014).

Deneysel Prosedürler

MDA tayini: Lipid peroksidasyonunun bir ölçüsü olan MDA düzeyi Okhawa ve arkadaşlarının tanımladığı metotta bazı değişiklikler yapılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü (Demir ve Yılmaz 2014). Alınan karaciğer doku örneklerinin (1.0 ml) üzerlerine 0.5 ml %8.1'lik sodyum

dodesil sülfat (SDS), 0.5 ml %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA), 1.0 ml %10'luk trikloroasetik asit (TCA), 1.0 ml %20'lik glasiyel asetik asit/sodyum hidroksit (NaOH) pH 3,5) ve 50 µl % 2'lik butile hidroksitolüen (BHT) eklendi ve bu karışım votrekslendi ve sonra 60 dk kaynar su banyosunda (95°C) bekletildi. Tüpler soğuduktan sonra 4.0 ml butanol/piridin karışımı (1:15 oranında) ilave edildi ve sonra tüpler 1780×g+4°C' de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üsteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda tüm örneklerin absorbansları okundu. Standart olarak 1.1',3.3'-tetraetoksipropan çözeltisi kullanıldı. Sonuçlar nmol/g doku olarak hesaplandı.

GSH tayini: GSH düzeyi Ellman tarafından tanımlanan metoda göre ölçüldü (Demir ve Yılmaz 2014). 0.5 ml karaciğer doku örneklerinin üzerine 1.0 ml %10'luk TCA reaktifi ilave edildi ve sonra 10 dk 2790×g'de santrifüj edilerek pellet çöktürüldü. Supernatant kısım başka bir tüpe alındı. Supernatant kısım üzerine 1.0 ml 5,5' ditiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) çözeltisi (%1'lik sodyum sitrat içinde 30 mg DTNB çözülerek hazırlandı) ve 0.3 M sodyum fosfat dibazik (Na₂HPO₄) çözeltisinden 2.0 ml ilave edildi ve sarı renk oluştuğunda örneklerin absorbansları 412 nm dalga boyunda okundu. Saf GSH kalibrasyon eğrisi oluşturmak için standart olarak kullanıldı (Akerboom ve Sies 1981).

Protein Tayini: Total protein miktarı Lowry ve arkadaşları tarafından tanımlanan metoda göre spektrofotometrik olarak ölçüldü (Demir ve Yılmaz 2014). Alınan 10 µl karaciğer doku örneklerine lowry çözeltisi eklendi ve 10 dk beklendi, süre sonunda su ile seyreltilmiş folin reaktifi ilave edildi. Otuz dakika sonra 760 nm dalga boyunda örneklerin absorbansı okundu. Bovin serum albümin kalibrasyon eğrisi oluşturmak için standart olarak kullanıldı.

Dokuda yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol tayini: Karaciğer doku örneklerinde yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol ekstraksiyonu Hara ve Radin tarafından tanımlanan metoda göre yapıldı (Demir ve Yılmaz 2014). Bunun için, karaciğer doku örnekleri 3:2 (v/v) oranında hekzan-isopropanol karışımı ile homojenize edildi. Daha sonra bu homojenat +4°C'de 9050×g'de 10 dk santrifüj edilerek elde edilen supernatant kısımdan yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol analizi yapıldı.

Yağ asidi bileşimini belirlemek için ayrılan örneklerin üzerine %2'lik metanolik sülfirik asit ilave edildi ve örneklerin iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 55 °C'de 15 saat metilleşmeye bırakıldı (Demir ve Yılmaz 2014). Süre sonunda, tüpler etüvden çıkarıldı, oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve %5'lik sodyum klorür (NaCl) ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstün pipetle alınarak %2'lik potasyum bikarbonat (KHCO₃) ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat beklendi. Daha sonra metil esterlerini içeren karışımlar, 45 °C'de ve azot gaz akımı altında çözücüleri uçuruldu, 1 ml n-heptan ile çözüldü ve yağ asidi metil esterleri gaz kromatografisinde analiz edildi. Bu analiz için SP™-2380 kapiller GC kolon (L× ID. 30 m × 0.25 mm, df 0.20 µm) (Supelco, Sigma, USA) kullanıldı.

A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol için alınan örneklerin üzerine %5'lik metanolik potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldıktan sonra 85 °C'de 15 dk bekletildi. Tüpler çıkartılarak oda sıcaklığına

kadar soğutuldu ve üzerine saf su ilave edildi ve karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 ml hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı azot akımı ile uçuruldu. Bir ml (%60+%40,v/v) asetonitril/metanol karışımında çözülerek otosampler viallerine alındı ve HPLC-UV'de analiz edildi. Mobil faz olarak asetonitril/metanol (%60+%40, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 1 ml/dk olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör ve kolon olarak da Süpelcosil LC™ 18 (15x4.6 mm, 5 µm; Sigma, USA) kullanıldı (Sánchez-Machado ve ark. 2002; López-Cervantes ve ark. 2006).

İstatistik Analizi

İstatistiksel analiz için, SPSS 15.0 paket programı kullanıldı. Grupları arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi (DMRT) kullanılarak yapıldı (Duncan 1957). Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi için P değeri p<0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda acı badem yağının karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeyine etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre, STZ grubunda MDA ve total protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde (p<0.001) arttığı, GSH düzeyinin anlamlı bir şekilde (p<0.001) azaldığı saptandı. STZ grubu ile karşılaştırıldığında, uygulanan acı badem yağı sonucunda STZ+ABY grubunda MDA, GSH ve total protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde (p<0.001) azaldığı tespit edildi.

Tablo 1. Diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda acı badem yağının MDA, GSH ve total protein düzeylerine etkisi

Table 1. Effect of bitter almond oil on the MDA, GSH and total protein levels in the liver tissue of diabetic rats

	Kontrol	STZ	STZ+ABY
MDA (nmol/g)	19.30±0.50 ^c	28.52±0.24 ^a	27.23±0.25 ^b
GSH (µmol/g)	15.38±0.43 ^a	6.02±0.16 ^b	0.88±0.02 ^c
Total Protein (µg/g)	156.31±0.81 ^b	162.64±1.25 ^a	140.03±0.85 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart hata (n=10) olarak verildi. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (P<0.05) (DMRT)]

Diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokusunda acı badem yağının yağ asidi bileşimine etkisi Tablo 2 'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, STZ grubunda 16:0, 16:1 (p<0.001) ve 20:4 (p<0.01) düzeylerinin önemli düzeyde azaldığı, buna karşılık 18:0 ve 18:2 düzeylerinin önemli düzeyde (p<0.001) arttığı, 18:1, 18:3 ve 22:6 düzeylerindeki görülen değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. STZ grubu ile mukayese edildiğinde, STZ+ABY grubunun karaciğer dokusunda 16:1, 18:2, 18:3 (p<0.001) ve 20:4 (p<0.05) düzeylerinin belirgin bir şekilde azaldığı, buna karşılık 18:0, 18:1 ve 22:6 düzeylerinin ise belirgin bir şekilde arttığı (p<0.001) belirlendi. Ayrıca 16:0 düzeyinde görülen değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Tablo 2. Diyabetik sıçanların karaciğer dokusundaki yağ asidi profiline acı badem yağının etkisi (%)**Table 2.** Effect of bitter almond oil on the fatty acid profiles in the liver tissue of diabetic rats (%)

	Kontrol	STZ	STZ+ABY
Palmitik asit (16:0)	20.88±0.38 ^a	19.36±0.29 ^b	18.80±0.14 ^b
Stearik asit (18:0)	18.30±0.11 ^c	19.15±0.09 ^b	20.65±0.12 ^a
ΣSFA	39.18±0.43	38.50±0.25	39.45±0.20
Palmitoleik asit (16:1)	2.16±0.02 ^a	1.55±0.01 ^b	1.08±0.02 ^c
Oleik asit (18:1)	6.06±0.33 ^b	6.32±0.15 ^b	7.00±0.12 ^a
ΣMUFA	8.22±0.34	7.87±0.15	8.08±0.11
Linoleik asit (18:2)	16.22±0.15 ^b	17.18±0.10 ^a	16.51±0.09 ^b
α-Linolenik asit (18:3)	0.24±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.20±0.01 ^b
Araşidonik asit (20:4)	27.62±0.17 ^a	26.98±0.14 ^b	26.51±0.15 ^c
Dokosaheksaenoik asit (22:6)	4.07±0.07 ^b	4.20±0.02 ^b	4.95±0.10 ^a
ΣPUFA	48.02±0.21	48.58±0.16	48.17±0.22
ΣUSFA	56.24±0.39	56.45±0.20	56.25±0.28

SFA: Doymuş Yağ Asitleri, MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asitleri, PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri, USFA: Doymamış Yağ Asitleri

Tablo 3. Diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol seviyelerine acı badem yağının etkisi (µg/g)**Table 3.** Effect of bitter almond oil on the A, D, E and K vitamins, cholesterol and sterol levels in the liver tissue of diabetic rats (µg/g)

	K	STZ	STZ+ABY
Vitamin K ₂	1.98±0.02 ^c	6.36±0.13 ^b	8.01±0.24 ^a
δ-Tokoferol	0.94±0.02 ^a	0.38±0.01 ^c	0.82±0.01 ^b
Vitamin D ₂	0.96±0.02 ^a	0.68±0.02 ^c	0.76±0.02 ^b
Vitamin D ₃	0.38±0.02 ^b	0.44±0.01 ^a	0.27±0.02 ^c
α-Tokoferol	9.67±0.11 ^c	22.75±0.19 ^b	32.13±0.24 ^a
Retinol µmol/g	1.86±0.02 ^b	2.34±0.02 ^a	2.35±0.03 ^a
Vitamin K ₁	3.99±0.06 ^c	8.66±0.13 ^b	9.27±0.18 ^a
Kolesterol µmol/g	1.82±0.01 ^b	3.28±0.03 ^a	3.27±0.06 ^a
Stigmasterol	90.29±0.56 ^b	207.00±1.01 ^a	210.15±2.54 ^a
β-sitosterol	10.73±0.18 ^c	21.32±0.23 ^b	26.27±0.32 ^a

TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabetli hasta sayısında görülen artış, araştırmacıları yeni tedavi yöntemleri aramaya itmiştir. Medikal tedavide kullanılan çeşitli antidiyabetik ilaçların yanında, medikal bitkilerden elde edilen çeşitli ürünlerin bu hastalığın tedavisinde başarı ile kullanılacağı ifade edilmiştir. Bu bitkilerin antihiperglisemik etkileri; aktivitesi bozulan pankreas dokusunun işlevini tekrar geri kazandırarak insülin salınımında artışa neden olmaları ya da bağırsakta glukoz emilimi ile insüline bağımlı metabolik yollarda metabolitlerin alınımını engelleme özelliklerine bağlı olarak ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Bundan dolayı, tıbbi bitkilerden elde edilen bileşiklerin pankreasta bulunan beta hücrelerini koruduğu ve kan glukoz düzeyinde oluşan dalgalanmaları azaltıcı etkilere sahip olduğu öne sürülmüştür (Fatima ve ark. 2010). Oksidatif stresin azaltılması ve oksidatif stres ile ilişkili hastalıklara ait komplikasyonların gelişimini yavaşlatma ya da engellemede antioksidan maddelerin kullanımını destekleyen çok sayıda yayın bulunmaktadır. Bitkilerde bulunan çeşitli aktif bileşiklerin hem serbest radikal

temizleyici hem de antioksidan olarak aktivite gösterdikleri ortaya çıkmıştır (Sunil ve ark. 2012).

Acı badem çekirdeklerinin diyabet, yara tedavisi, böbrek, kardiyovasküler, üriner sistem ve cilt hastalıklarında kullanıldığı ifade edilmiştir (Tuzlacı 2005; Gürdal ve Kültür 2013; Demir ve Yılmaz 2014). Kontrol grubuna göre, deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara uygulanan acı badem yağının karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeylerini azalttığı tespit edildi (Tablo 1). Badem, fenolik bileşikler, tokoferol ve doymamış yağ asitleri bakımından önemli besin maddesidir (Jia ve ark. 2011; Keser ve ark. 2014b) ve bu bileşiklerin sahip olduğu antioksidan potansiyelinden dolayı karaciğer dokusunda MDA düzeyini azalttığı söylenebilir. Hüresel oksidatif stres biyobelirteçlerinin sadece karsinogenezde değil, aynı zamanda dejeneratif hastalıklarla ilişkili ateroskleroz, diyabet ve yaşlanmada önemli bir faktör olduğu ifade edilmiştir (López-Uriarte ve ark. 2010). Tersiyer-bütül hidroperoksit uygulanarak hepatositlerde oluşturulan oksidatif stres neticesinde, stres belirteçlerinde oluşan artışları ceviz ve fındık ekstraktının azalttığı bildirilmiştir (Banach ve ark. 2009). Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların beyin, serum ve eritrosit gibi biyolojik

numunelerinde MDA düzeyinin arttığı, GSH düzeyinin azaldığı, uygulanan acı badem yağının MDA düzeyini azalttığı, GSH düzeyinde artış sağladığı tespit edilmiştir (Demir ve Yılmaz 2014; Demir ve ark. 2013). Karbon tetraklorürün (CCl₄) karaciğerde neden olduğu hasar sonucunda antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azaldığı, MDA düzeyinin arttığı doza bağlı olarak uygulanan badem yağının bozulan enzim aktivitelerini düzelttiği, MDA düzeyini azalttığı belirlenmiştir (Jia ve ark. 2011). Bademin oksidatif stres üzerinde yararlı etkileri olduğu çalışmalarda ortaya çıkmıştır (Mandalari ve ark. 2011a; Mandalari ve ark. 2011b; Liu ve ark. 2013).

Diyabette yağ asidi kompozisyonunun değiştiği bildirilmiştir (Demir ve Yılmaz 2014; Demir ve ark. 2013; Naresh Kumar ve ark. 2013). Bu çalışmada da diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda yağ asidi bileşiminde önemli değişikliklerin olduğu tespit edildi (Tablo 2). Palmitik ve stearik asit (SFA) organizmada en çok bulunan doymuş yağ asitleridir. Kontrol grubuna göre, STZ grubunda SFA düzeyinin azaldığı, uygulanan acı badem yağının SFA düzeyini artırarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı saptandı (Tablo 2). Ramkumar ve ark. (2008), alloksan monohidrat vererek diyabet oluşturdukları sıçanların karaciğer dokusunda SFA düzeyinin arttığını, uyguladıkları tedavi edici bitkisel ekstraktın SFA düzeyini azalttığını bildirmişler. Douillet ve ark. (1993), STZ verilmiş sıçanların karaciğer dokusunda palmitik asit düzeyinin azaldığını, stearik asit düzeyinin arttığını rapor etmişler. Bu çalışmada da her iki yağ asidi düzeyinde elde edilen bulguların önceki çalışma bulguları ile paralellik gösterdiği görülmektedir.

Palmitoleik ve oleik asit tekli doymamış yağ asitlerindedir (MUFA), sterol CoA desaturaz (SCD), palmitik (16:0) ve stearik asiti (18:0) substrat olarak kullanır. Bu yağ asitlerden palmitoleik (16:1) ve oleik asit (18:1) gibi yağ asitleri sentezlenir. Palmitoleik ve oleik asit hücredeki fosfolipit ve depo lipitlerinde bulunan yağ asitlerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu durum membran akışkanlık için oldukça önemlidir. Doymuş ve tek çift bağ taşıyan doymamış yağ asitleri arasındaki oran doğrudan membran akışkanlığı ile membranın fiziksel özelliğini etkilemekte ve bu yağ asitleri arasındaki oranda oluşan değişikliklerin diyabet, obezite, hipertansiyon, kanser, nörolojik ve kalp hastalıklarının ortaya çıkışında etkisinin olduğu öne sürülmüştür. SCD aktivitesi üzerinde hormonal, diyetel ve çevresel faktörlerin etkili olduğu ifade edilmiştir (Douillet ve ark. 1993; Kim ve Ntambi 1999; Ntambi ve Miyazaki 2004). Bu çalışmada kontrol grubuna göre, STZ grubunda palmitoleik asit düzeyinin azaldığı, oleik asit düzeyinin arttığı ve ayrıca MUFA düzeyinin azaldığı, uygulanan acı badem yağı sonucunda MUFA düzeyinin artarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı saptandı (Tablo 2). Ramkumar ve ark. (2008), diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda MUFA düzeyinin arttığını, uyguladıkları bitkisel ekstraktın MUFA düzeyini azalttığını belirlemişler, yine bu çalışmada oleik asit düzeyinin arttığı ortaya çıkmıştır. Douillet ve ark. (1993), oleik asit düzeyinin azaldığını belirlemişler. Yapılan benzer çalışmalarda oleik asit düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Krachler ve ark. 2008). Shin ve ark. (1995), diyabetik sıçanların karaciğer mikrozomlarında palmitoleik ve oleik asit düzeylerinin azaldığını tespit etmişler.

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif hasara karşı en açık moleküllerdir. Linoleik (n-6) ve α -linolenik asit (n-3) diğer çoklu doymamış yağ asitlerinin üretilmesi için bir dizi desaturasyon ve uzama reaksiyonları ile metabolize edilerek araşidonik ve dokosaheksaenoik gibi yağ asitlerine

dönüşmektedirler (Cameron ve Cotter 1999). Bu çalışmada kontrol grubuna göre, STZ grubunda linoleik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığı, α -linolenik ve araşidonik asit düzeylerinin azaldığı, PUFA düzeyinin arttığı fakat bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı, uygulanan acı badem yağı neticesinde PUFA düzeyinin azaldığı ve ayrıca linoleik, α -linolenik ve araşidonik asit düzeylerinin azaldığı, dokosaheksaenoik asit düzeyinin arttığı belirlendi (Tablo 2). Ramkumar ve ark. (2008), diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda PUFA düzeyinin azaldığını diğer bir deyişle linoleik, α -linolenik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin azaldığını, uyguladıkları *Gymnema montanum* ekstraktının PUFA düzeyini arttırdığını diğer bir ifade ile α -linolenik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerini arttırdığını linoleik asit düzeyini azalttığını saptamışlar. Douillet ve ark. (1993), diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda linoleik ve α -linolenik asit düzeylerinin azaldığını, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığını bildirmişler. Naresh Kumar ve ark. (2013), diyabetik sıçanlarda α -linolenik asit düzeyinin azaldığını, araşidonik asit düzeyinin arttığını tespit etmişler. Shin ve ark. (1995), diyabetik sıçanların karaciğer mikrozomlarında linoleik, α -linolenik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığını, araşidonik asit düzeyinin azaldığını ifade etmişler. Levant ve ark. (2013), kontrol grubuna göre, STZ grubunda linoleik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin azaldığını bildirmişler.

Diyabette doku yağ asidi bileşiminde ortaya çıkan değişikliklerden delta 5 desaturaz, delta 6 desaturaz ve delta 9 desaturaz aktivitelerinde ortaya çıkan değişikliklerin sorumlu olduğu ifade edilmiştir (Shin ve ark. 1995; Nishida ve ark. 1998; Brenner 2003; Krachler ve ark. 2008). Bu çalışmada da karaciğer dokusunda yağ asidi bileşiminde ortaya çıkan değişiklikler, olasılıkla bu enzimlerin aktivitelerinin diyabet koşullarından etkilenmesi neticesinde ortaya çıkmış olabilir. Bademin kan glukoz metabolizması üzerindeki olumlu etkilerine bağlı olarak bazı yağ asidi parametrelerinde oluşan anormallikleri önlediği söylenebilir. Çünkü badem gibi bitkisel ürünlerin glukoz metabolizması üzerinde faydalı etkileri olduğu ve diyabette oluşan metabolik anormalliklerin azaltılmasında yararlı aktiviteler gösterdikleri çeşitli çalışmalara konu olmuştur (Ramkumar ve ark. 2008; Li ve ark. 2011; Liu ve ark. 2013; Anwar ve ark. 2013; Demir ve Yılmaz 2014).

α -tokoferol, E vitamininin doğada en çok bulunan formudur. E vitamini yağda çözünebilir ve antioksidan özelliği olan bir vitamindir. E vitamini, kanser, nörodejeneratif ve kardiovasküler hastalıklar ile diyabet gibi patolojik durumların dokularda oluşturduğu lipit peroksidasyona karşı hücre membranını koruyucu etkileri bulunmaktadır. Tip-2 diyabetik Goto-Kakizaki sıçanlarının kullanıldığı bir çalışmada bu sıçanların plazma ve karaciğer dokularında α -tokoferol düzeyinin arttığı, ortaya çıkan bu durumun α -tokoferol transfer protein düzeyinin artmasından dolayı ortaya çıktığı ifade edilmiştir (Miyazaki ve ark. 2013). Bu çalışmada da kontrol grubuna göre, STZ ve STZ+ABY grubunda α -tokoferol düzeyinin arttığı saptandı (Tablo 3). Diyabet koşullarından ya da bademde bol miktarda bulunan α -tokoferolden dolayı karaciğer dokusunda α -tokoferol düzeyinin arttığı söylenebilir. Diyabetik sıçanlara (*od/od*) uygulanan α -tokoferolün, bu sıçanların serum ve karaciğer gibi biyolojik numunelerinde α -tokoferol düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir (Nakano ve ark. 2008).

Memelilerde SREBPs-1 ve SREBPs-2 adı verilen iki ayrı SREBP transkripsiyon faktörü bulunmaktadır. SREBPs-2 (Sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler) kolesterol metabolizmasından sorumlu genlerin aktivitesini kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür. Aktivitesi insüline bağlıdır. Dolaşımda insülin düzeyi azaldığında aktivitesi baskılanan bu transkripsiyon faktörü, HMG CoA sentaz, HMG CoA redüktaz, farnesil difosfat sentaz ve squalen sentaz enzimlerinin gen ekspresyonları ile LDL reseptör sayısının düzenlenmesinde aktivite gösterdiği öne sürülmüştür (Xiao ve Song 2013). STZ'nin neden olduğu diyabette insülin sekresyonunun azaldığı bu durumda büyük olasılıkla yukarıda bahsedilen enzimlerin aktivitesinin değişmesine neden olduğu, sonuçta bu değişiklikler karaciğer dokusunda kolesterol biyosentezinin artmasına yol açmış olabilir (Tablo 3).

Diyabetik sıçanların dokularında kolesterol ve sterol birikiminin olduğu ifade edilmiştir (Scoggan ve ark. 2009; Jansen ve ark. 2006). Bu çalışmada da karaciğer dokusunda sterol düzeyinin arttığı görülmektedir (Tablo 3). Diyabetik sıçanların, karaciğer ve bağırsak dokusunda kolesterol ve bitkisel sterol düzeyinde oluşan artışın *abcg5* (ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı G5) ve *abcg8* (ATP-bağlanma kaset taşıyıcısı G8) taşıyıcı protein ekspresyonlarında oluşan belirgin azalma ile sterol düzenlenmesinde rol oynayan birçok genin mRNA düzeylerinin azalması ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmada karaciğer dokusunda oluşan sterol artışından yukarıda ifade edilen metabolik yolların sorumlu olduğu ifade edilebilir. Sterolce zengin beslenme neticesinde sterol düzeyinin arttığı rapor edilmiştir (Scoggan ve ark. 2009). Scoggan ve ark. (2009), diyetle alınan bitkisel sterollerin diyabetik sıçanlarda kolesterol düzeyinde azalmaya sebep olduğunu ifade etmişler fakat bu çalışmada bu durum gözlemlenmedi. Yapılan çalışmalarda özellikle zayıf kontrol edilen diyabet durumunda, dokularda ve dolaşımda retinol taşıyıcı protein aktivitesinin etkilendiği gösterilmiştir. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların plazmalarında retinol düzeyinde oluşan azalışa bağlı olarak karaciğer dokusunda retinol düzeyinin kontrol grubu sıçanlarına göre arttığı saptanmıştır (Tuitoek ve ark. 1996). Bu çalışmada da STZ gruplarında retinol düzeyinin arttığı belirlenmiştir (Tablo 3). Bu durum olasılıkla diyabet koşullarından kaynaklanmış olabilir.

Elde edilen bulgulara göre, acı badem yağının, karaciğer dokusunda MDA düzeyi üzerinde olumlu etki gösterdiği, fakat daha moleküler düzeye inildiğinde acı badem yağının metabolik yollarda görev yapan enzim aktiviteleri üzerinde sınırlı etkiye sahip olmasından dolayı, yağ asidi ve ADEK vitaminleri üzerinde oluşan anormallikler üzerinde etkisinin sınırlı kaldığı söylenebilir. Bu çalışmada ortaya çıkan verilerin daha kapsamlı metotlar içeren çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Fırat Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FÜBAP- FF. 11.39 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akerboom TP, Sies H. (1981). Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol*, 77, 373-82.
- Anwar, M, Shousha WG, El-mezayen HA, et al. (2013). Antiatherogenic effect of almond oil in streptozotocin induced diabetic rats. *J App Pharm Sci*, 3 (10), 59-65.

- Ashokkumar N, Pari L. (2005). Effect of N-benzoyl-D-phenylalanine and metformin on carbohydrate metabolic enzymes in neonatal streptozotocin diabetic rats. *Clin Chim Acta*, 351 (1-2), 105-13.
- Banach MS, Dong Q, O'Brien PJ. (2009). Hepatocyte cytotoxicity induced by hydroperoxide (oxidative stress model) or glyoxal (carbonylation model): prevention by bioactive nut extracts or catechins. *Chem Biol Interact*, 178 (1-3), 324-31.
- Biswas A, Chatterjee S, Chowdhury R, et al. (2012). Antidiabetic effect of seeds of *Strychnos potatorum* Linn. in a streptozotocin-induced model of diabetes. *Acta Pol Pharm*, 69 (5), 939-943.
- Brenner RR. (2003). Hormonal modulation of D6 and D5 desaturases: case of diabetes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 68 (2), 151-62.
- Cameron NE, Cotter MA. (1999). Effects of antioxidants on nerve and vascular dysfunction in experimental diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 45 (2-3), 137-46.
- Cohen AE, Johnston CS. (2011). Almond ingestion at mealtime reduces postprandial glycemia and chronic ingestion reduces hemoglobin A(1c) in individuals with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 60 (9), 1312-7.
- Demir E, Keser S, Yılmaz Ö. (2013). Protective effects of bitter almond kernel oil on some biochemical parameters in brain tissue of diabetic rats. *Journal of Inter-cultural Ethnopharmacology*, 2 (3), 127-134.
- Demir E, Yılmaz Ö. (2014). Streptozotocin ile Tip-1 diyabet oluşturulan sıçanlarda acı badem yağının serum ve eritrositlerdeki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18, 13-21.
- Dewanjee S, Das AK, Sahu R, Gangopadhyay M. (2009). Antidiabetic activity of *Diospyros peregrina* fruit: effect on hyperglycemia, hyperlipidemia and augmented oxidative stress in experimental type 2 diabetes. *Food Chem Toxicol*, 47 (10), 2679-85.
- Douillet C, Chancerelle Y, Cruz C, et al. (1993). High dosage vitamin E effect on oxidative status and serum lipids distribution in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Med Metab Biol*, 50 (3), 265-76.
- Duncan BD. (1957). Multiple range test for correlated and heteroscedastic means. *Biometrics*, 13, 359-364.
- Fatima SS, Rajasekhar MD, Kumar KV, Kumar MT, Babu KR, Rao CA. (2010). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of ethyl acetate: isopropanol (1:1) fraction of *Vernonia anthelmintica* seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*, 48 (2), 495-501.
- Gürdal B, Kültür S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *J Ethnopharmacol*, 146 (1), 113-26.
- Jansen PJ, Lütjohann D, Abildaveya K, et al. (2006). Dietary plant sterols accumulate in the brain. *Biochim Biophys Acta*, 1761 (4), 445-53.
- Jia X, Li N, Zhang W, et al. (2006). A pilot study on the effects of almond consumption on DNA damage and oxidative stress in smokers. *Nutr Cancer*, 54 (2), 179-83.
- Jia XY, Zhang QA, Zhang ZQ, et al. (2011). Hepatoprotective effects of almond oil against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chemistry*, 125, 673-678.
- Keser S, Demir E, Yılmaz Ö. (2014a). Phytochemicals and antioxidant activity of the almond kernel (*Prunus dulcis* mill.) from Turkey. *J Chem Soc Pak*, 36 (3), 534-541.
- Keser S, Demir E, Yılmaz Ö. (2014b). Some bioactive compounds and antioxidant activities of the bitter almond kernel (*Prunus dulcis* var. *amara*). *J Chem Soc Pak*, 36 (5), 922-930.
- Kim YC, Ntambi JM. (1999). Regulation of stearoyl-CoA desaturase genes: role in cellular metabolism and preadipocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*, 266 (1), 1-4.
- Krachler B, Norberg M, Eriksson JW, et al. (2008). Fatty acid profile of the erythrocyte membrane preceding development of Type 2 diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 18 (7), 503-10.
- Kumar S, Narwal S, Kumar D, Singh G, Narwal S, Arya R. (2012). Evaluation of antihyperglycemic and antioxidant activities of *Saraca asoca* (Roxb.) De Wild leaves in streptozotocin induced diabetic mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2 (3), 170-176.
- Levant B, Ozias MK, Guilford BL, Wright DE. (2013). Streptozotocin-induced diabetes partially attenuates the effects of a high-fat diet on liver and brain fatty acid composition in mice. *Lipids*, 48 (9), 939-48.
- Li SC, Liu YH, Liu JF, Chang WH, Chen CM, Chen CY. (2011). Almond consumption improved glycemic control and lipid profiles in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 60 (4), 474-9.
- Liu JF, Liu YH, Chen CM, Chang WH, Chen CY. (2013). The effect of almonds on inflammation and oxidative stress in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized crossover controlled feeding trial. *Eur J Nutr*, 52 (3), 927-35.
- López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI, Ríos-Vázquez NJ. (2006). High-performance liquid chromatography method for the

- simultaneous quantification of retinol, alpha-tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *J Chromatogr A*, 1105 (1-2), 135-9.
- López-Uriarte P, Nogués R, Saez G, et al. (2010).** Effect of nut consumption on oxidative stress and the endothelial function in metabolic syndrome. *Clin Nutr*, 29 (3), 373-80.
- Mandalari G, Bisignano C, Genovese T, et al. (2011a).** Natural almond skin reduced oxidative stress and inflammation in an experimental model of inflammatory bowel disease. *Int Immunopharmacol*, 11 (8), 915-24.
- Mandalari G, Genovese T, Bisignano C, et al. (2011b).** Neuroprotective effects of almond skins in experimental spinal cord injury. *Clin Nutr*, 30 (2), 221-33.
- Miyazaki H, Takitani K, Koh M, Takaya R, Yoden A, Tamai H. (2013).** α -Tocopherol status and expression of α -tocopherol transfer protein in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 59 (1), 64-8.
- Nakano M, Onodera A, Saito E, et al. (2008).** Effect of astaxanthin in combination with alpha-tocopherol or ascorbic acid against oxidative damage in diabetic ODS rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 54 (4), 329-34.
- Naresh Kumar R, Sundaram R, Shanthi P, Sachdanandam P. (2013).** Protective role of 20-OH ecdysone on lipid profile and tissue fatty acid changes in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol*, 698 (1-3), 489-98.
- Nishida S, Kanno T, Nakagawa S. (1998).** Diabetes-induced and age-related changes in fatty acid proportions of plasma lipids in rats. *Lipids*, 33 (3), 251-9.
- Ntambi JM, Miyazaki M. (2004).** Regulation of stearyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog Lipid Res*, 43 (2), 91-104.
- Oh WK, Lee CH, Lee MS et al. (2005).** Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*. *J Ethnopharmacol*, 96 (3), 411-5.
- Ramkumar KM, Vijayakumar RS, Ponmanickam P, Velayuthaprabhu S, Archunan G, Rajaguru P. (2008).** Antihyperlipidaemic effect of *Gymnema montanum*: a study on lipid profile and fatty acid composition in experimental diabetes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 103 (6), 538-45.
- Ros E. (2010).** Health benefits of nut consumption. *Nutrients*, 2 (7), 652-82.
- Sánchez-Machado DI, López-Hernández J, Paseiro-Losada P. (2002).** High-performance liquid chromatographic determination of alpha-tocopherol in macroalgae. *J Chromatogr A*, 976 (1-2), 277-84.
- Scoggan KA, Gruber H, Chen Q, et al. (2009).** Increased incorporation of dietary plant sterols and cholesterol correlates with decreased expression of hepatic and intestinal *Abcg5* and *Abcg8* in diabetic BB rats. *J Nutr Biochem*, 20 (3), 177-86.
- Shin CS, Lee MK, Park KS, et al. (1995).** Insulin restores fatty acid composition earlier in liver microsomes than erythrocyte membranes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*, 29 (2), 93-8.
- Sunil C, Ignacimuthu S, Kumarappan C. (2012).** Hypolipidemic activity of *Symplocos cochinchinensis* S. Moore leaves in hyperlipidemic rats. *J Nat Med*, 66 (1), 32-8.
- Teotia S, Singh M. (1997).** Hypoglycemic effect of *Prunus amygdalus* seeds in albino rabbits. *Indian J Exp Biol*, 35 (3), 295-6.
- Tuitoek PJ, Ritter SJ, Smith JE, Basu TK. (1996).** Streptozotocin-induced diabetes lowers retinol-binding protein and transthyretin concentrations in rats. *Br J Nutr*, 76 (6), 891-7.
- Tuzlacı E. (2005).** Bodrum'da Bitkiler ve Yaşam. Güzel Sanatlar Matbaası, İstanbul.
- Vasi S, Austin A. (2009).** Effect of herbal hypoglycemics on oxidative stress and antioxidant status in diabetic rats. *The Open Diabetes Journal*, 2, 48-52.
- World Health Organization/International Diabetes Federation. 1999.** The Economics of Diabetes and Diabetes Care. A Report of the Diabetes Health Economics Study Group. WHO: Geneva.
- Xiao X, Song BL. (2013).** SREBP: a novel therapeutic target. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 45 (1), 2-10.



The Effect of Copper (II) Sulphate Toxication on The Liver Histopathology, Liver Protein Electrophoresis and Plasma Biochemistry of Mice (*Mus musculus*)

Basaran KARADEMİR¹ Evren KOÇ² Yusuf ERSAN³ Muhitdin YILMAZ⁴ Hamit USLU⁵

¹ Kafkas University, Kars Vocational School, Department of Veterinary Science, Kars, Turkey

² Kafkas University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Bioengineering, Kars, Turkey

³ Kafkas University, Faculty of Science and Art, Department of Biology, Kars, Turkey

⁴ Sinop University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Bioengineering, Sinop, Turkey

⁵ Kafkas University, Atatürk Health Vocational School, Department of Health Care Services, Kars, Turkey

Received: 12.11.2014

Accepted: 20.11.2014

SUMMARY

The effects of copper (II) sulphate toxication on mice liver morphology, liver protein electrophoresis and plasma biochemical findings were investigated in this study. A total of 21 mice divided into 3 groups. Serum physiologic (0.9% NaCl) was given to control group for 5 days intra-peritoneally. Copper sulphate at 2 and 6 mg/kg respectively were given to two experimental groups. The blood and liver samples were collected from subjects at the end of the study. Histopathological, electrophoretic and plasma biochemical analyses were performed on these samples. Liver degeneration was determined in dose dependent manner according to histopathological findings. Thinning on the protein bands of 2 mg/kg copper sulphate group and thickening on the protein bands of 6 mg/kg copper sulphate group were observed with reference to control group data in liver protein electrophoresis. Plasma Total Oxidant Status (TOS) for both experimental groups were increased statistically ($p < 0.05$) in the biochemical analyses. However, plasma AST levels increased at 6 mg/kg copper sulphate group only ($P < 0.01$). As a consequence, copper sulphate toxication has negative effect on the liver histopathology and liver protein electrophoresis of mice, but there were no supportive effect of plasma biochemical data exactly.

Key Words: Copper (II) Sulphate, Mice, Degeneration Of Liver, SDS-PAGE, Oxidative Stress, Lipid Profile

ÖZET

Bakır (II) Sülfat Toksikasyonunun Fare (*Mus musculus*) Karaciğer Histopatolojisi, Karaciğer Protein Elektrofrezisi ve Plazma Biyokimyası Üzerine Etkisi

Bu çalışmada bakır (II) sülfat toksikasyonunun ergin fare karaciğer morfolojisi, karaciğer protein elektrofrezisi ve plazma biyokimyasal bulguları üzerine etkileri araştırıldı. Toplam 21 fare 3 gruba bölündü. 5 gün süreyle intraperitoneal olarak kontrol grubuna serum fizyolojik, çalışma gruplarına sırasıyla 2 ve 6 mg/kg bakır sülfat verildi. Çalışma sonunda, deneklerden kan ve karaciğer örnekleri toplandı. Bu örnekler üzerinde histopatolojik, elektroforetik ve biyokimyasal analizler yapıldı. Histopatolojik bulgulara göre doza bağlı olarak karaciğerde dejenerasyonlar tespit edildi. Karaciğer protein elektrofrezisinde kontrol grubuna kıyasla 2 mg/kg bakır sülfat grubunda protein bantlarında incelleme, 6 mg/kg CuSO_4 grubunda protein bantlarında ise kalınlaşma gözlemlendi. Biyokimyasal analizlerde plazma Total Oksidan Seviyesi (TOS) her iki grupta da istatistiksel olarak önemli düzeyde arttı ($P < 0.05$). Bununla birlikte plazma AST düzeyi yalnızca 6 mg/kg CuSO_4 grubunda arttı ($P < 0.01$). Sonuç olarak, bakır sülfat toksikasyonunun farelerin karaciğerlerinin histopatolojisi ve karaciğer protein elektrofrezisi üzerinde negatif etkisi oldu. Fakat bu bulguları plazma biyokimyasal verileri tam olarak desteklemedi.

Anahtar Kelimeler: Bakır (II) Sülfat, Fare, Karaciğer Dejenerasyonu, SDS-PAGE, Oksidatif Stres, Lipit Profili

GİRİŞ

Bakır, hayvansal organizmalarda merkezi sinir sisteminde miyelin kılıfın oluşumunda, kıl ve derinin pigmentasyonunda, hemoglobin ve bağdokunun metabolizmasında görevler almaktadır (Çimtay ve Ölçülü 2000; Kurt ve ark. 2001). Yine bakır sitokrom oksidaz ve

aromatik aminoasitlerin metabolizmasına giren tirozinaz, dopamin hidroksilaz, monoamino oksidaz gibi birçok enzimin yardımcı faktörü olarak görev almaktadır (Atasoy 1998). Ayrıca bakır insan ve hayvanlarda Cu/Zn-SOD ve seruloplazminin yapısına girmekte ve noksanlığında yapısına girdiği söz konusu enzimlerin noksanlıklarına sebep olabilmektedir (Abuhijleh 1997; Müller 1999; Çiftçi

ve ark. 2009).

Strese neden olan faktörler ve bazı hastalıklar esnasında serum bakır düzeyinin düştüğü bildirilmektedir (Orr ve ark. 1990; Priçcive ark. 1999; Erel ve ark. 2001; Raheic ve ark. 2006; Karademir 2007). Yine birçok bölgede toprak ve çayır otlarındaki bakır yetersizliğine bağlı olarak hayvanlarda bakır yetersizliğinin oluştuğu bilinmektedir (Dargatz ve ark 1999; Çimtay ve Ölçülü 2000; Kurt ve ark. 2001; Gambling ve ark. 2008).

Hayvansal organizmalarda bakır yetersizliğini tedavi etmeye yönelik çalışmalar ve uygulamalar bildirilmektedir (Bulut 2006; Karademir 2009, Karademir 2010). Bu uygulamaların yan etkisi veya yanlış uygulamaları şeklinde parenteral bakır sülfat uygulamalarının bakır zehirlenmesine yol açacağı göz önünde tutulmalıdır. Bununla birlikte bazı bölgelerin toprakları ve bitki örtüsündeki bakır düzeyinin hayvansal organizmalar için toksik sınırlarda olduğu da bilinmektedir (Mackachlan ve Jhoston 1982). Bakır sülfatın çeşitli amaçlarla bizzat insan eliyle çevreye toksik dozlarda yayıldığına dair bilgiler mevcuttur. Bu bağlamda Karan ve ark. (1998) bakır sülfatın fitoplankton kontrolü için göllerde algisit olarak kullanıldığını bildirmektedir. Yine Arda ve ark. (2002) bakır sülfat olarak kültür balıkçılığında paraziter ve fungal hastalıklarının tedavileri ve önlenmesinde herbisit olarak kullanıldığını bildirmektedirler. Ayrıca havuzlarda zararlı su bitkilerinin yok edilmesi için rutin olarak bakır bileşikler kullanılmaktadır (Arda ve ark. 2002).

Bakırın yüksek dozlarda alınması canlı organizmalar üzerinde sitotoksik veya tersine kanserojenik etkiye sahiptir. Metaller ve özellikle de ağır metaller reaktif oksijen türlerinin üretimi aracılığıyla hücre membranlarında hasara, hücre dejenerasyonu ve ölümüne neden olmaktadır (Pourahmad ve ark. 2003)

Yapılan literatür incelemede bakır toksikasyonunun hayvansal organizmalar üzerinde oluşturduğu dejeneratif etkinin daha çok aydınlatılması gerektiği kanısı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle bu çalışma ile akut bakır toksikasyonunun farelerin karaciğer morfolojisi ve proteinleri, plazma enzimleri, plazma antioksidan ve oksidan düzeyleri, plazma lipid profili ve açlık kan glikoz düzeyleri üzerindeki etkilerinin ortaya çıkartılması hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali ve Deney Düzeneği

Bu çalışmanın hayvanlar üzerindeki uygulamaları, Kafkas Üniversitesi (KAÜ) Deney hayvanları yerel etik kurulu tarafından uygun bulunmuştur (KAÜ-HADYEK/2011-21). Çalışmada toplam 21 adet 10-12 hafta yaşlı erkek fare kullanıldı. Her grupta 7 adet fare bulunan 2 deney ve 1 kontrol grubu oluşturularak 5 gün süreyle deney grubundaki hayvanlara sırasıyla 2 mg/kg ve 6 mg/kg dozunda Bakır sülfat, kontrol grubundaki hayvanlara ise 0.1 ml serum fizyolojik intraperitoneal yolla (i.p.) enjekte edildi. Çalışma süresince normal oda ısısı (22-24°C) ve 12/12 aydınlık/karanlık periyodunda tutulan denekler, ticari fare yemiyle *ad libitum* olarak beslendi.

Histopatoloji

Çalışma bitiminde deney hayvanları izofluran anestezisi altında atlanto-okspital dislokasyon yöntemiyle ötenazi edildi. Sistemik nekropsileri yapılan deneklerden karaciğer dokuları alınarak öncelikle tespit amacıyla %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna alındı. Tespit edilen dokulardan bilinen yöntemlerle parafin bloklar

hazırlanarak 4-5 µm kalınlığında kesildi. Elde edilen kesitler hematoksilin ve eozin (HE) boyama metoduna göre boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51, JAPAN) değerlendirildi.

Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Hayvanlardan alınan karaciğer doku örnekleri 13000 rpm'de 1 dakika homojenize edildikten sonra +4 °C ve 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Karaciğerlerin total proteinleri Biüret metoduna göre ölçüldü (Robert ve Michael 1993). Proteinlerin konsantrasyonları 4 µg/µl'ye ayarlandı. Daha sonra, numune tamponu ile 1:1 oranında sulandırılarak son protein konsantrasyonları 2 µg/µl'ye ayarlanıp, Laemmli (1970) ve O'Farrell (1975) metodlarına göre, sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)'nde yürütüldü (Laemmli 1970, O'Farrell 1975). Proteinlerin moleküler ağırlığı Weber ve ark. (1972)'lerinin metoduna göre hesaplandı, standart protein olarak sığır albumini (66 kD), yumurta albumini (45 kD), gliseraldehit-3-fosfat (36 kD) ve tripsinojen (24 kD) kullanıldı (Weber ve ark. 1972).

Plazma Biyokimyasal Analizleri

Plazma antioksidan ve oksidan düzeyleri Total Antioxidant Status (TAS) ve Total oksidan durum (TOS) Assay kit (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Turkey) vasıtasıyla ölçüldü (Erel 2004). Plazma karaciğer enzimleri, lipid profili ve protein düzeyleri Architect c16000 model otoanalizör kullanılarak ölçüldü (Abbott Diagnostics - USA).

Açlık Kan Glikoz Düzeyleri

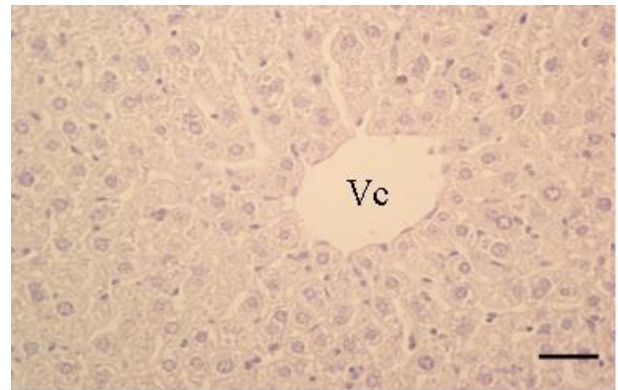
İlk gün, 3. ve 6. günlerde kuyruk uçları kesilerek elde edilen kandan Yasee marka glikometre aracılığı ile ölçüldü. Kan alımından 6 saat öncesinde farelerin yemleri önlerinden uzaklaştırılarak aç kalmaları sağlandı.

İstatistiksel Analizler

Gruplar arası farklılıkların istatistik kontrolleri için One-Way ANOVA, grup verilerinin bire bir karşılaştırmaları için Tukey testi kullanıldı.

BULGULAR

Mikroskopik incelemelerde, kontrol grubundaki hayvanların karaciğerlerinde normal karaciğer morfolojisi gözlemlendi (Şekil 1).

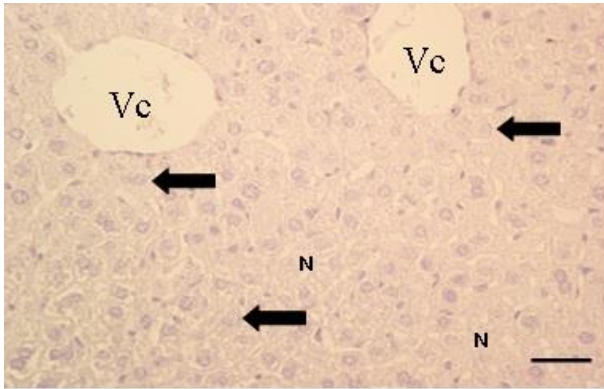


Şekil 1. Serum fizyolojik verilen kontrol grubundaki farelerin karaciğeri (Vc: Vena sentralis). H-E, bar = 20 µm.

Figure 1. The liver of mice in the control group (normal serum physiologic applied) (Vc: Vena centralis). H&E, bar = 20 µm.

Deney gruplarında ise karaciğer dokusunda değişen derecelerde dejeneratif değişiklikler tespit edildi. Genel olarak I. grupta (2 mg/kg bakır sülfat verilen grup) orta derecede hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu gözlemlendi. II. grupta ise (6 mg/kg Bakır sülfat verilen grup) ortadan şiddetliye kadar değişen derecelerde dejenerasyonlara rastlandı.

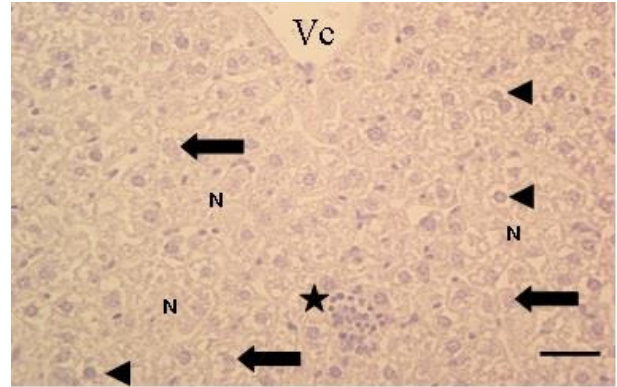
Dejeneratif bozuklukların daha az şiddette olduğu vakalarda bu dejeneratif hasarın periasinar tarzda olduğu tespit edildi. Fokal koagülasyon nekrozları ise genellikle midzonal daha az olarak ise periasiner yerleşimliydi. Ayrıca çalışma gruplarındaki farelerin karaciğerinde Kupffer hücrelerinin proliferasyonu ile çoğunluğu yaygın bazen de topluluklar halinde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 2-3).



Şekil 2. 2 mg/kg CdSO₄ uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokusu. Fokal nekroz alanları (N) ve hidropik dejenerasyon (oklar) ve Vena sentralis (Vc). H-E, bar = 20 µm.

Figure 2. The liver tissue of mice administrated 2 mg/kg CdSO₄. Areas of necrosis (N), hydropic degeneration (arrows) and Vena centralis (Vc). H&E, bar = 20 µm

Karaciğer protein elektroforezinde ise, 2 mg/kg doz uygulanan gruptaki farelerin protein bantlarında kontrol grubu hayvanların protein bantlarına nazaran incelmeler, 6 mg/kg doz uygulanan grupta ise genelde kalınlaşmalar görüldü (Şekil 4).



Şekil 3. 6 mg/kg CdSO₄ uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokusu. Fokal nekroz alanları (N), hidropik dejenerasyon (oklar), Vc: Vena sentralis. H-E, bar = 20 µm.

Figure 3. The liver tissue of mice administrated 6 mg/kg CdSO₄. Areas of necrosis (N), hydropic degeneration (arrows), mononuclear cell infiltration (star), vacuolar degeneration areas (arrowheads) . Vc: Vena centralis. H&E, bar = 20 µm.

Tablo 1. Plazma TAS, TOS, ALT, AST, Lipit profili ve Protein düzeyleri (Ortalama ± standart sapma)

Table 1. Plasma TAS, TOS, ALT, AST, Lipid profile and Protein levels (Mean ± SD)

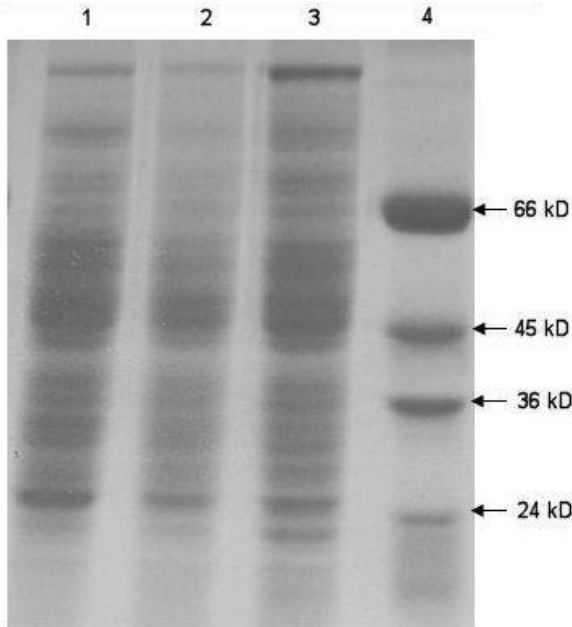
Parametreler	Araştırma Grupları		
	Kontrol (n=7)	2 mg/kg (n=7)	6 mg/kg (n=7)
TAS (mmol Trolox Eq/L)	2.19 ± 0.34	2.08 ± 0.26	2.04 ± 0.20
TOS (µmol H ₂ O ₂ Eq/L)	0.62 ± 0.17 ^a	0.86 ± 0.12 ^b	0.86 ± 0.12 ^b
ALT	29.50 ± 3.94	32.60 ± 9.74	36.60 ± 9.63
AST	126.50 ± 18.41 ^x	131.80 ± 27.36 ^x	196.00 ± 40.50 ^y
Total Kolesterol	126.67 ± 7.92	120.17 ± 15.66	131.83 ± 20.96
HDL- Kolesterol	58.40 ± 3.85	58.33 ± 6.80	59.83 ± 6.91
LDL- Kolesterol	43.80 ± 11.61	42.67 ± 14.01	47.40 ± 14.88
VLDL	17.57 ± 2.88	19.17 ± 3.37	19.33 ± 5.68
Trigliserit	90.17 ± 12.11	99.80 ± 11.78	96.67 ± 27.57
Total Protein	6.00 ± 0.32	5.35 ± 0.59	5.42 ± 0.56
Albumin	2.50 ± 0.37	2.38 ± 0.18	2.52 ± 0.23
Globulin	3.50 ± 0.45	2.97 ± 0.43	3.07 ± 0.42

a-b = P<0.05, x-y = P<0.01

Tablo 2. Açlık kan glikoz düzeyleri (ortalama ± standart sapma)
Table 2. Preprandial blood glucose level (Mean ± SD)

Kan Glukoz Düzeyleri	Araştırma Grupları		
	Kontrol (n=7)	Kontrol (n=7)	Kontrol (n=7)
0. gün Glukoz	126.50 ± 13.66	133.29 ± 15.07	129.00 ± 13.80
3. gün Glukoz	120.50 ± 16.65	130.00 ± 16.22	124.50 ± 8.14
6. gün Glukoz	119.40 ± 17.27	143.80 ± 18.02	130.83 ± 10.70

Biyokimyasal analiz sonuçlarında bakır uygulamaları plazma TOS seviyesini önemli düzeyde ($p < 0.05$) attırırken, plazma TAS düzeyinde önemli bir değişikliğe neden olmadı ($p > 0.05$). 2 mg/kg bakır sülfat uygulanan grupta AST düzeyinde önemsiz bir artış ($p > 0.05$) gösterirken, 6 mg/kg bakır sülfat uygulanan gruptaki artış istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.01$). TOS ve AST düzeyleri dışındaki diğer tüm biyokimyasal parametreler ve açlık kan glikoz düzeylerinde ki farklılıklar istatistikî bakımdan önemsiz olduğu gözlemlendi.



Şekil 4. Bakır (II) sülfata maruz bırakılan ergin farelerin karaciğerlerinin SDS-PAGE'den elde edilen elektroforegramı. 1: kontrol grubu, 2: 2 mg/kg doz uygulanan grup, 3: 6 mg/kg doz uygulanan grup ve 4: standart proteinler.

Figure 4. Taken from SDS-PAGE, the electrophoregram of the livers of the mature mice exposed to copper(II) sulphate pentahydrate. 1: the control group, 2: the 2 mg/kg dosed group, 3: the 6 mg/kg dosed group and 4: standart proteins.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bakır bazı özel proteinler ve enzimlerin aktivasyonu için esansiyel bir elementtir (Carvalho ve Fernandes 2008). Bununla birlikte yüksek miktarlardaki bakır alımı hayvansal organizmalar üzerinde toksik etkilere sahiptir (Karan ve ark. 1998; Monteiro ve ark. 2005; Carvalho ve Fernandes 2008). Sağlam ve Ural (2003), farklı dozlarda bakır sülfat uygulamalarının *Oncorhynchus mykiss*'in

karaciğerde vakuolar dejenerasyon, sinuzoidal boşluklar, hemoraji ve karaciğer toplar damarlarında hemorajik lenfosit infiltrasyonuna, böbrek tubul epitelinde dejeneratif değişikliklere neden olduğunu bildirmiştir. Chen ve arkadaşları (2005) ise yüksek bakır konsantrasyonuna maruz kalan farelerin karaciğer, böbrek ve dalaklarında patolojik değişiklikler ve ağır hasar gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Bulut (2006), farelere bakır asetatın intramuskuler uygulamalarının karaciğerde doku nekrozu, hidropik ve vakuolar dejenerasyona sebep olduğunu bildirmiştir. Sunulan bu çalışmada 2 mg/kg bakır sülfat uygulanan grubun karaciğer dokusunda hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu tespit edilirken 6 mg/kg bakır sülfat uygulanan grupta ise dejenerasyonun derinliği ve şiddetinin arttığı gözlemlendi. Dejeneratif hasarın periasiner tarzda olduğu, fokal koagülasyon nekrozlarının ise genellikle midzonal daha az olarak ise periasiner yerleşimli olduğu tespit edildi. Bu bulguların yukarıda verilen bilgilerle ve literatürlerle paralel olduğu gözlemlenmiştir.

Proteinler, hücresel fonksiyonlarda ve hücre yapısında farklı işlevlere sahip olan organik bileşiklerdir ve hücrelerde birçok aktivitenin gerçekleşebilmesi ve homeostatik dengenin sağlanabilmesi için gereklidirler. Toksik maddeler vücuda alındığında oluşan stres süresince organizma gereksinim duyduğu fazla miktardaki enerjiyi karşılamak amacıyla proteinleri hidroliz ederek amino asitlere dönüşümüne neden olabilmektedir (Ozkan ve Emre 2002). Bakırın ayrıca bağışıklık sisteminin gelişmesi ve onarılmasında önemli rol oynadığı fakat etki mekanizmasının nasıl olduğu bilinmemektedir (Markevicius ve Dringelienė 2004). Subletal bakır uygulamasının *Oncorhynchus mykiss*'in deri, karaciğer ve solungaçlarındaki protein sentezine 0.2 µM dozda etki etmediği ancak 0.7 µM dozda bu dokulardaki protein sentezini azalttığı belirtilmiştir (Smith ve ark 2001). Yine 4 ve 8 günlük periyotlarda 0.1 ppm, 0.25 ppm bakır ve 0.1ppm bakır + 75 ppm chitosan uygulanan *Cyprinus carpio*'ların karaciğer total protein düzeyi araştırılmış ve sadece 4. günde bakır + chitosan grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, diğer gün ve gruplardaki artışın kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (Dautremepuits ve ark. 2004). Benzer şekilde farklı doz ve sürelerde bakır uygulamasının *Oreochromis niloticus*'un bakıra maruz kaldığı süre zarfında zaman ve konsantrasyona bağlı olarak plazma protein konsantrasyonunun azaldığı bildirilmektedir (Monteiro ve ark. 2005). Carvalho ve ark. (2004) farklı pH değerlerinde bakıra maruz bırakılan *Prochilodus scrofa*'nın karaciğer dokusunda düşük molekül ağırlıklı bir protein olan metallothionein konsantrasyonunun arttığını bildirmişlerdir. Bethin ve ark. (1995) ise bakır bağlayıcı S-adenosylhomosisteine hidrolaz'ın fare karaciğeri üzerine etkisini araştırmışlar ve bakır eksikliğine bağlı olarak

farelerde birçok proteinin etkilenmediğini bunun yanı sıra 23 kD'luk protein bandında incelmeye, 55 ve 80 kD'luk protein bantlarında ise kalınlaşmalar meydana geldiğini protein bantlarında ise kalınlaşmalar meydana geldiğini belirtmişlerdir. Mevcut çalışmada ise karaciğer protein elektroforezinde 2 mg/kg doz uygulanan gruptaki protein bantlarında kontrol grubuna oranla incelmeler, 6 mg/kg doz uygulanan gruptaki protein bantlarında ise kalınlaşmalar olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulardaki bu ters etkinin; düşük doz uygulanan gruptaki hayvanların toksikasyona karşı mevcut şartlarda savunma yapması, yüksek doz uygulanan grupta ise şiddetli toksikasyon karşısında daha üst düzey bir savunma mekanizmasına geçmiş olduğu ve buna bağlı olarak da karaciğerdeki protein sentezinin ve depolanmasının arttığı düşünülmektedir. 0.1 ve 0.3 ppm bakır sülfat içeren su ortamlarında tutulan *Cyprinus carpio* balık türünün serum protein bantlarında kalınlaşmalar meydana geldiği ayrıca deney gruplarında 40 kD ve 43 kD'luk protein bantlarının oluştuğu, bunun sebebinin ise toksikasyon stresi ve immün sistemin uyarılmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Tanrıku 2008). Mevcut çalışmada ise 2 mg/kg doz uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer protein bantlarında incelmeler 6 mg/kg doz uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer protein bantlarında ise kalınlaşmalar tespit edilmiştir. Bu farklılığın sebebinin toksikantların farklı canlı türleri üzerinde farklı maruziyetlerde aynı etkiyi göstermemesi olduğu kanısındayız.

Yapılan bazı çalışmalarda farklı doz ve sürelerde bakır uygulamasının lipid profili, oksidatif stress ve karaciğer enzim aktivitelerini artırdığı belirtilmiştir. Lei (1983), düşük (0.85 mg/kg) ve yüksek (8 mg/kg) konsantrasyonlarda bakır diyeti uygulamasına bağlı olarak düşük bakır diyeti uygulanan ratlarda VLDL kolesterol seviyelerinin yüksek doz diyet uygulama gruplarına göre daha düşük olduğu, LDL ve HDL kolesterol düzeyleri ile apolipoprotein E seviyelerinin daha yüksek olduğunu bildirilmekte ve hiperkolesteroleminin sebebinin esas olarak kolesterol yıkılmasına sürecindeki başlıca bir bozulmadan dolayı olabileceğini belirtmektedir. Yine Nandini ve ark. (2000) ratlara 4 gün boyunca 3 mg/kg bakır uygulamasının total kolesterol seviyesini artırdığını, HDL kolesterol ve trigliserit seviyelerini azalttığını bildirmişlerdir. Toplan ve ark. (2003), ratlarda deneysel bakır uygulamasının (dokuz hafta boyunca içme suyuyla 250 mg/L Cu) MDA ve SOD seviyelerini artırdığını, GSH seviyesini ise azalttığını belirtmişlerdir. Karan ve ark. (1998) ise balıklar üzerine yaptıkları bir çalışmada bakır 2 ve 4 mg/L bakır uygulamasına bağlı olarak karaciğer enzim aktivitelerinde artış meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Diğer taraftan bazı araştırmacılar ise bakır sülfatın yararlı etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Solaiman ve ark. (2006) keçilere 112 gün boyunca 100 ve 200 mg bakır sülfat uygulamasına bağlı olarak lipid profili üzerinde önemli bir değişiklik saptanmadığını bildirmişlerdir. Sitasawad ve ark. (2001) Streptozotodin ile tip I diyabet oluşturulan farelere fizyolojik dozda (20-25 µg/0.2 ml) Bakır sülfat uygulamasına bağlı olarak artan kan glikoz ve plazma MDA seviyelerinde düşüş gözlemlendiğini, Tip I diyabette Bakır sülfat kullanımının bu yararlı etkisinin glikoz seviyesini azaltarak ya da doğrudan serbest radikalleri azaltarak olabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise bakır uygulamalarının karaciğer kaynaklı plazma AST enzim aktivitesini yüksek doz grubunda artırdığı ve oksidatif stresi indükleyerek her iki bakır uygulama grubunda da TOS'u önemli (p<0.05) düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Plazma lipid profili üzerine etkisinin ise

istatistiksel olarak anlam ifade etmediği belirlendi. Elde edilen veriler ve yukarıdaki literatür bulguları arasındaki farklılık, kullanılan hayvan türü, uygulanan doz ve süreye bağlı olarak değişiklik göstermiş olabilir.

Karaciğerin histopatolojik incelemelerinde her iki bakır sülfat uygulama grubunda da bağlı olarak artan derejasyon tespit edildi. Söz konusu histopatolojik bulguları elektroforetik bulgular destekledi. Biyokimyasal bulgular bakımından TOS ve AST bulgularındaki değişiklikler istatistiki açıdan önemli bulunurken diğer biyokimyasal verilerdeki değişiklikler istatistiki anlam ifade etmemiş yalnızca rakamsal olarak kalmıştır. Söz konusu durum araştırmada kullanılan bakır sülfatın doz ve süre bakımında oluşturduğu karaciğer hasarının tüm karaciğeri etkilemekte yetersiz kalmasından ve karaciğerin sağlam kalan kısımlarının ihtiyacı kompanse etmesinden kaynaklanmış olabilir. Bu bakımdan çalışmadaki histopatolojik ve elektroforetik bulguları biyokimyasal veriler tarafından tam olarak desteklemediği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abuhijleh AL (1997).** Renary copper (II) complexes of the anticonvulsant drug valproate with diamines as superoxide dismutase mimics. *J Inorg Biochem*, 68, 167-175.
- Arada M, Seçer S, M Sarıyüyyüoğlu (2002).** Balık hastalıkları, Medisan Yayınevi. No: 56, Ankara.
- Atasoy N (1998).** Tiftik keçilerinin serum ve kıllarında bakır ile çinko düzeyleri. *Yüzüncü Yıl Üniv Sağlık Bil Derg*, 4 (1-2), 44-47.
- Bethin KE, Cimato TR, Ettinger MJ (1995).** Copper binding to mouse liver s-adenosylhomocysteine hydrolase and the effects of copper on its levels. *J Biol Chem*, 270 (35), 20703-20711.
- Bulut M (2006).** Erişkin fare karaciğeri üzerine bakır asetatın histopatolojik etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniv Fen Bil Enst, Kars.
- Carvalho CS, Araujo HSS, Fernandes MN (2004).** Hepatic metallothionein in a teleost (*prochilodus scrofa*) exposed to copper at pH 4.5 and pH 8.0. *Comp Biochem Physiol*, 137, 225-234.
- Carvalho CS, Fernandes MN (2008).** Effect of copper on liver key enzymes of anaerobic glucose metabolism from freshwater tropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp Biochem Physiol A*, 151 (3), 437-442.
- Chen Z, Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G, Wang T, Yuan H, Ye C, Zhao F, Chai Z, Zhu C, Fang X, Ma B, Wan L (2005).** Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol Lett*, 163, 109-120.
- Çiftçi H, Özkaya A, Dayangaç A, Ölçücü A, Çelik S, Şahin Z, Ateş S (2009).** Effect of lipoic acid on the some elements in brain tissue of DMBA-induced Guinea pigs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (4), 569-573.
- Çimtay İ, Ölçülü A (2000).** Elazığ yöresinde klinik olarak sağlıklı görünen sığırlarda kan plazması ve kıllarındaki bakır değerleri üzerinde araştırmalar. *Tr J Vet Anim Sci*, 24, 267-273.
- Dargatz DA, Garry FB, Clark GB, Ross PF (1999).** Serum copper concentrations in beef cows and heifers. *J Am Vet Med Assoc*, 215, 1828-1832.
- Dautremepuits C, Palacios SP, Betoulle S, Vernet G (2004).** Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. *Comp Biochem Physiol*, 137, 325-333.
- Erel O (2004).** A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 37, 277-285.
- Erel Ö, Gürel MS, İlhan N, Özdemir Y (2001).** Lepre ve tüberkülozda serum bakır ve çinko düzeyleri. *Fırat Tıp Derg*, 2 (3), 295-298.
- Gambling L, Andersen HS, McArdle HJ (2008).** Iron and copper, and their interactions during development. *Biochem Soc Trans*, 36, 1258-1261.
- Karademir B (2010).** The effect of oral Levothyroxine sodium on serum Zn, Fe, Ca and Mg levels during acute copper sulfate intoxication in rabbits. *JAVA*, 9 (2), 240-247.
- Karademir B (2009).** The effects of oral Levothyroxine sodium application on serum copper concentration in rabbits. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (6), 937-942.
- Karademir B (2007).** Effect of stress induced by vaccination on blood plasma copper, zinc, potassium and magnesium. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 13 (1), 49-54.

- Karan V, Vitorović S, Tutundžić V, Poleksić V (1998)** Functional enzymes activity and gill histology of Carp after copper exposure and recovery. *Ecotoxicol Environ Saf*, 40, 49-55.
- Kurt D, Denli O, Kanay Z, Güzel C, Ceylan K (2001)**. Diyarbakır bölgesinde Akkaraman koyunlarında kan serumunda Cu, Zn, Se ve yünde Cu, Zn düzeylerinin araştırılması. *Tr J Vet Anim Sci*, 25, 431-436.
- Laemmli UK (1970)**. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lei, KY (1983)**. Alterations in plasma lipid, lipoprotein and apolipoprotein concentrations in copper-deficient rats. *J Nutr*, 113, 2178-2183
- Mackachlan GK, Jhoston WS (1982)**. Copper poisoning in sheep from North Ronaldsay maintained on diet of terrestrial herbage. *Vet Rec*, 111 (13), 299-301.
- Markevicius A, Dringeliene A (2004)**. Comparison of lead and copper exposure effect on immune cells in mice. *Acta Medica Lituanica*, 11 (4), 14-18.
- Monteiro SM, Mancera JM, Fernandes AF, Sousa M (2005)**. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. *Comp Biochem Physiol*, 141, 375-383.
- Müller J, Schubl D, Maichle-Mössmer C, Strahle J, Weser (1999)**. Structure-function correlation of Cu(II)- and Cu(I)-di-Schiffbase complexes during the catalysis of superoxide dismutation. *J Inorganic Biochem*, 75, 63-69.
- Nandini, M., Rahiman, MA., Rao, S (2000)**. Effect of dietary fish on the lipid profile of cholesterol stressed rats during copper overload. *IJCB*, 15 (2), 161-166.
- O'Farrell PH (1975)**. High resolution two-dimensional electrophoresis of biological properties and significance. *Comp Biochem. Physiol*, 88 M, 497-501.
- Orr CL, Hutcheson DP, Grainger RB, Cummins JM, Mock RE (1990)**. Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine respiratory disease and infectious bovine rhinotracheitis. *J Anim Sci*, 68, 2893-2900.
- Ozkan F, Emre I (2002)**. Malathion ve Dieldrin'in *Tilapia zilli* Gervais, 1848 Dokularında Total Protein Düzeyi Üzerine Etkileri. *Fırat Üniv Fen ve Müh Bil Derg*, 14 (2), 251-258.
- Pourahmad J, O'Brien PJ, Jokar F, Daraei B (2003)**. Carcinogenic metal induced sites of reactive oxygen species formation in hepatocytes. *Toxicol in Vitro*, 17, 803-810.
- Pirinççi İ, Tanymldmz S, Ateşşahin A, Çakmak S (1999)**. Deneysel olarak selenyum ile zehirlenen koyunlarda serum sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, çinko ve bakır düzeylerinin belirlenmesi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Dergisi*, 13 (2), 67-72.
- Raheic D, Kujundzic M, Romic Z, Brkic K, Petroveckı M (2006)**. Serum concentration of zinc, copper, manganese and magnesium in patient with liver cirrhosis. *Coll Atropol*, 30 (3), 523-528.
- Robert R, Michael JD (1993)**. Enzyme assays. 225-332, Oxford University Press., Newyork.
- Saglam N, Ural M (2003)**. Değişik yoğunluktaki bakır sülfat (CuSO₄) solusyonunda bırakılan Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) makroskobik ve mikroskobik incelemeler. *Fırat Üniv Fen ve Müh Bil Derg*, 15 (1), 89-97.
- Sitasawad, S., Deshpande, M., Katdare M., Tirth, S., Parab, P (2001)**. Beneficial effect of Supplementation with Copper sulfate on STZ-diabetic mice (IDDM). *Diabetes Res Clin Pract*, 52, 77-84.
- Smith RW, Blaney SC, Dowling K, Sturm A, Jönsson M, Houlihan DF (2001)**. Protein synthesis costs could account for the tissue-specific effects of sub-lethal copper on protein synthesis in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicol*, 53, 265-277.
- Solaiman, SG., Shoemaker, CE., Jones, WR., Kerth, CR (2006)**. The effects of high levels of supplemental copper on the serum lipid profile, carcass traits, and carcass composition of goat kids. *J Anim Sci*, 84, 171-177.
- Tanrıkkulu D (2008)**. Çıldır gölü'nde yaşayan *Cyprinus carpio* (L., 1758) bireylerinin serum proteinleri üzerine bakır sülfat (CuSO₄·5H₂O)'ın etkisinin elektroforetik yünden incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniv Fen Bil Enst, Kars.
- Toplan, S., Dariyerli, N., Özçelik, D., Akyolcu, MC (2003)**. Sıçanlarda deneysel bakır uygulamasının oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkileri. *Cerrahpaşa J Med*, 34, 185-187.
- Weber K, Pringle J, Osborn M (1972)**. Measurement of molecular weights by electrophoresis on SDS- acrylamide gel. *Meth. Enzymol*, 26, 3-27.



The Microbiological Quality of Infant Milk and Follow - on Formula

Cigdem SEZER Leyla VATANSEVER Nebahat BILGE

Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Safety and Public Health, Kars, Turkey

Received: 06.08.2014

Accepted: 30.11.2014

SUMMARY

This study was conducted for the purpose of evaluating the microbiological quality of commercially available infant formulas in terms of public health. A total of fifty infant milk and follow-on formulas (in jars or powder form) sold in markets in the province of Kars from five different international companies were analysed. Microbiological quality of samples were analysed with conventional culture method. According to the microbiological criteria specified in the Turkish Food Codex Regulation for Baby Food-Baby Formulas and Baby-Infant Supplements, one sample (2%) was found to be in noncompliance with regard to total aerobic mesophilic organisms, 11 samples (22%) for the coliform bacteria count, eight samples (16%) for total yeast and mold counts and five samples (10%) for the *B. cereus* count. Furthermore, *L. monocytogenes* was identified in three samples (6%), *Salmonella* spp in two samples (4%), *B. cereus* in five samples (10%) and *E. coli* in seven samples (14%). In conclusion, thirteen (26%) of the fifty samples analyzed in this study failed to comply with the regulation, and they were found to contain pathogens that could cause serious health problems in babies. It has been demonstrated that baby foods and follow-on formulas can be a potential source of food poisoning with infants and pose a significant risk for babies.

Key Words: Infant milk, Follow-on formula, Microbiological quality

ÖZET

Bebek Sütü ve Devam Formüllerinin Mikrobiyolojik Kalitelerinin Araştırılması

Bu araştırma bebek sütü ve devam formüllerinin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi ve halk sağlığı açısından değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Kars ilinde satışa sunulan 5 farklı firmaya ait toplam 50 adet bebek sütü ve devam formülü (kavanoz veya toz formda/doğumdan itibaren-6 aylık) alınmış ve mikrobiyolojik kaliteleri klasik kültür tekniği ile belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bebek Mamaları-Bebek Formülleri ve Bebek-Küçük Çocuk Ek Gıdaları Tebliği'nde verilen mikrobiyolojik kriterlere göre 1 örnek (%2) toplam aerobik mezofilik canlı sayısı, 11 örnek (%22) koliform bakteri sayısı, 8 örnek (%16) toplam maya ve küf sayısı ve 5 örnek (%10) *B. cereus* sayısı bakımından uygun bulunmamıştır. Ayrıca 3 örnekte (%6) *L. monocytogenes*, 2 örnekte (%4) *Salmonella* spp, 5 örnekte (%10) *B. cereus*, 7 örnekte (%14) *E. coli* tespit edilmiştir. Bu durumda analiz edilen 50 örneğin 13 (%26) adedinin Tebliğ'e uygun olmadığı bebeklerde ciddi sağlık sorunlarına neden olabilecek patojen mikroorganizma içerdikleri belirlenmiştir. Bebek mamaları ve devam formüllerinin özellikle bebeklerde gıda kaynaklı zehirlenmeler açısından potansiyel bir kaynak olabilecekleri ve bebekler için büyük bir risk oluşturdukları görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bebek sütü, Devam formülü, Mikrobiyolojik kalite

INTRODUCTION

Ready to use infant formulas can be consumed directly and require no processing other than adding water; these products meet the special nutritional needs of babies for the first few months of life, up until the time they are introduced to suitable supplemental food. Infant milk is defined as infant formulas produced exclusively from the protein in cow's milk (Anon 2009a)

Newborn babies are extremely sensitive to infections, particularly those originating from food. Therefore, maintaining the microbiological safety is quite important during the production and preparation of the products

considering that the quality of raw ingredients and hygienic conditions of production plant are the major factors affecting the quality of the final product. When it comes to infant formulas, these quality control measures are exceptionally critical (Iversen and Forsythe 2003).

However, some of the studies investigating the microbiological condition of the infant foods showed that they could threaten the consumer's health by having poor hygienic quality. The researchers indicated that *S. aureus*, *E. coli*, *Cronobacter sakazakii* and *Bacillus cereus* were the most frequent microorganisms existing in these kinds of products (Ergün and Ergün 1994; Ergün et al. 2002; Chap

et al. 2009; Wang et al. 2012). The microorganisms that might be found in ready to use powdered infant foods have been evaluated according to the risk they pose and 3 basic risk groups have been identified. As a result of epidemiological and microbiological research, *Salmonella* and *C. sakazakii* have been assigned to group A found in infant foods and have been demonstrated to cause infection. The other members of the Enterobacteriaceae family (*Pantoea agglomerans*, *Escherichia vulneris*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *C. freundii*, *Klebsiella oxytoca* and *Enterobacter cloacae*) cause diseases in babies, but they were placed in group B because there is not sufficient epidemiological and microbiological evidence to indicate that infant foods are the source or medium for these diseases. *Clostridium botulinum*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* and *B. cereus* are found in group C (Anon 2007).

The purpose of this study was to evaluate the microbiological quality of commercially available infant formulas in terms of public health.

MATERIALS and METHODS

In this study, fifty samples of infant milk and follow - on formulas (in jars or powder form) produced by five different international companies were purchased from markets in the province of Kars and brought to the laboratory being kept in a cold chain at 4 °C. The characteristics of the samples are provided in Table 1.

Table 1. Sample distribution

Sample	Number of different product examined
Infant milk (powder) / From birth	5
Infant formula (powder) / From birth	5
Rice flour with milk (powder) / Starting in the 4 th month	5
Fruit and grain (jar) / Starting in the 4 th month	5
Mixed vegetable puree (jar) / Starting in the 4 th month	5
Fruit pudding (jar) / Starting in the 4 th month	5
Blend of milk and grain (powder) / Starting in the 5 th month	5
Follow - on formula (powder) / Starting in the 6 th month	5
Follow - on milk (powder) / Starting in the 6 th month	5
Garden vegetable puree (jar) / Starting in the 6 th month	5

Microbiological Analyses

Twenty five grams were weighed from the samples and homogenized in 225 ml of sterile saline (0.9%). After preparing decimal dilutions, the plates were inoculated by spread or pour plate techniques and incubated under the following conditions: Plate Count Agar (Oxoid CM 325) 30 °C/48 hours for Total Aerobic Mesophilic Colony Count; Violet Red Bile Lactose Agar (Oxoid CM 107) 37 °C/24 hours for Coliform Group Bacteria; Violet Red Bile Lactose Agar (Oxoid CM 107) 44.5 °C / 24–48 hours for *Escherichia coli*; Potato Dextrose Agar (Difco B 13) 22 °C/5–10 days for Yeast-Mold; Perfringens Agar (Oxoid, CM0543) 35

°C/18–24 hours (Anaerobic) for *Clostridium perfringens*; *Bacillus cereus* Agar (with Polymixin B) (Oxoid, CM 617) 30 °C/24–48 hours for *Bacillus cereus* and de Man Rogosa Sharpe Agar (Oxoid, CM 361) 30 °C/48–72 hours for lactic acid bacteria. Typical colonies of *C. perfringens*, *B. cereus* ve *S. aureus* were selected and stocked in slant agar. Biochemical tests (Gram reaction, catalase, oxidase, hemolysis, IMVIC test, reduction of nitrate, lecithinase activity, motility, hydrolysis of aesculin, produce acid from glucose anaerobically, carbohydrate fermentation test, etc.) were performed for identification (Kandler and Weiss 1986; Harrigan 1998; Halkman 2005).

Isolation of *Salmonella* spp

Twenty-five grams were weighed from the sample, homogenized in 225 ml of buffered peptone water and incubated for 24 hours at 37 °C. At the end of the incubation period, 0.1 ml was removed and inoculated in Rappaport Vassiliadis Broth (Oxoid, CM 669), incubated for 18 - 24 hours at 42 °C and inoculated using the spread plate technique on, Brilliant Green Agar (Oxoid, CM 263), Hektoen Enetric Agar (Oxoid, CM 419), Xylose Lysine Deoxycholate Agar (Oxoid, CM 469) selective agars and incubated for 18-24 hours at 37 °C. Ten typical colonies were picked from selective medium and stock in Tryptone Soya Agar (Oxoid, CM 131). Following biochemical tests were performed for identification; urea test, formation of acid and gas from glucose, utilization of lactose and sucrose and the formation of H₂S in Triple Sugar Iron Agar, lysine decarboxylase test, Voges/Proskauer and Indole tests. The *Salmonella* latex test (Oxoid, FT 203) was applied to the isolates for serological analysis (Andrews and Hammack 1995; ISO 2002).

Isolation of *Listeria monocytogenes*

Twenty-five grams were weighed from the sample, homogenized in 225 ml of *Listeria* Enrichment Broth (Oxoid, CM 862) and incubated for 24 hours at 30 °C. At the end of the incubation period, the enriched culture was inoculated on *Listeria* Selective Agar (Oxoid, CM 856) using the spread plate technique and incubated for three days at 37 °C. Ten typical colonies were picked from selective medium and stocked in Tryptone Soya Agar. Following biochemical tests were performed for identification; Gram staining, catalase, oxidase, Indole, Methyl Red, Voges/Proskauer, nitrate reduction, motility, CAMP and carbohydrate fermentation test (Seeliger and Jones, 1986; Hitchins, 2011).

Isolation of *Escherichia coli* O157:H7

Twenty-five grams were weighed from the sample, homogenized in 225 ml of modified EC broth (mEC+novobiocin/14582, Merck) and incubated for 18 hours at 37 °C. After the enrichment stage, it was spread on Sorbitol MacConkey (SMAC) agar having cefixime and tellurite supplement (CT-SMAC Agar/109207, Merck) and incubated for 18-24 hours at 41-42 °C. Sorbitol negative colorless colonies were picked and inoculated on MacConkey Agar (Oxoid, CM007) containing 4-methylumbelliferyl-D-glucuronide (Oxoid, BR0071). After incubation for 18 hours at 41-42 °C, MUG negative colonies were selected and stocked in Tryptone Soya Agar. The following biochemical tests were conducted on the isolates: Gram reaction, Indole, Methyl Red, Voges/Proskauer, citrate, hydrogen sulfide production, gas production from glucose, lactose, motility and lysine decarboxylase (Harrigan 1998; Halkman 2005; Feng and Weagant 2011).

Isolation of *Cronobacter sakazakii*

Samples of 100 g, 10 g and 1 g were weighed and then completely dissolved in sterile distilled water at a ratio of 1:10. This solution was kept overnight at 36 °C. At the end of this time, 10 ml of overnight cultures were homogenized in 90 ml of Enterobacteriaceae Enrichment Broth (Oxoid, CM 1115) and incubated for 24 hours at 36 °C. After incubation, 0.1 ml of samples were spread on Violet Red Bile Glucose Agar (Oxoid, CM 485) and incubated for 24 hours at 36 °C. Typical purple colonies were picked and inoculated on Tryptone Soya Agar. The plates were incubated at 25 °C for 24-48 hours and typical yellow colonies were identified by applying lysine decarboxylase, arginine dihydrolase, ornithine decarboxylase, and carbohydrate fermentation tests (Farmer and Kelly 1992; Anon 2002a,b).

Table 2. Results of microbiological analysis

	Total aerobic mesophilic bacteria count	Coliform	Total yeast and mold	<i>B.cereus</i>	Lactic acid bacteria count
Number of sample below the detectable limits	21	39	42	45	42
Lowest value (CFU / g)	1.0x10 ²	1.6x10 ²	1.2x10 ²	4.0x10 ²	1.3x10 ²
Highest value (CFU / g)	1.4x10 ⁴	4.0x10 ³	3.2x10 ³	8.3x10 ²	3.4x10 ³
* Number of samples not in compliance with regulation	1 (powder)	11 (2 jars-9 powders)	8 (4 jar-4 powder)	5 (powder)	-

* Code of hygienic practice for powdered formulae for infants and young children (Codex Alimentarius, 2008) * Turkish Food Codex baby formulas directives and baby-infant supplements regulation (Anon 2009a, 2009b).

According to the microbiological criteria specified in the Codex Alimentarius Commission and Turkish Food Codex Regulation for Baby Formulas and Baby - Infant Supplements, one sample (2%) was found to be unacceptable for its total aerobic mesophilic organism count, 11 samples (22%) for the number of coliform bacteria, eight samples (16%) for total yeast and mold counts and five samples (10%) for the *B. cereus* count. Furthermore, *L. monocytogenes* was identified in three samples (6%), *Salmonella* spp in two samples (4%), *B. cereus* in five samples (10%) and *E. coli* in seven samples (14%). In conclusion, thirteen (26%) of the total fifty samples had poor hygienic quality according to Turkish Food Regulations and had risks for baby health.

Feeding infants with ready to use infant foods from birth through the first few months is getting more common for a number of reasons, such as the increasingly fast pace of daily life, lack of time, the more active participation of women in the work force. This kind of nutrition could bring some health risks for babies with sensitive immune systems in terms of microbiological quality of the infant milk and follow - on formula (Hanson et al. 2003). Therefore, from raw material to final product, regular and detailed quality control analyses must be conducted at each stage of production. Rising of the consumer's awareness could be helpful for decreasing of the health troubles originated from infant foods. Regular controls of baby formulas on the shelves of the markets are also important for keeping the both producers and the consumers updated about current situation.

In this study, the total average count of aerobic mesophilic organisms in the samples was found to be 1.0x10³ CFU/g, and one of the samples failed to comply with the Turkish Regulation. In a similar study, Iversen and Forsythe (2004) reported that 56% of the powdered infant food samples had the total aerobic bacteria count at <10² CFU/g level,

RESULTS and DISCUSSION

The microbiological analyses showed that the average microorganism counts of the samples were as follows; 1.0x10³ CFU/g for total aerobic mesophilic bacteria, 1.6x10² CFU/g for coliforms, 1.8x10² CFU/g for yeast and molds, 6.6x10¹ CFU/g for *B. cereus* and 1.5x10² CFU/g for Lactic acid bacteria. In twenty one of the samples, the count of tested microorganisms were under detection limit while *L. monocytogenes* was identified in three (6%), *Salmonella* spp in two (4%), *B. cereus* in five (10%) and *E. coli* in seven samples (14%). However, *C. perfringens*, *E. coli* O157:H7 and *C. sakazakii* were not detected in any of them. The results of the microbiological analysis were presented in Table 2.

while the others had >10³-10⁴. Ergün and Ergün (1994) also declared that 12% of the domestic samples they tested had over 10⁴ CFU/g bacterial load for the same microorganism group.

The most important changes in total organism count of infant foods and follow-on formulas occur during the stage between preparation and consumption. Therefore, it is essential to give the mothers and hospital employees a special training to ensure that prepared infant food is consumed as quickly as possible under suitable conditions.

In this study, pathogens were also investigated in the samples and *Salmonella* spp was detected in two samples (4%). A number of studies have emphasized that powdered infant formulas are a significant source of *Salmonella* in newborn infections. The Salmonellosis cases in France between 2004 and 2005 affected 141 babies less than one year old, and the organism have been isolated in powdered infant foods (Brouard et al. 2007). Similarly, in Spain, there are some reports declaring that 48 babies most of whom were younger than 7 months have been effected by the infection and powdered infant foods those they consumed were contaminated with *Salmonella* (Usera et al. 1996).

In this study, *B. cereus* was another pathogen detected in five of the samples (10%) with the average contamination level at 6.6x10¹ CFU/g which was not acceptable according to Turkish Regulations. In a similar study (Ergün et al. 2002), researchers reported that 3.3% of the samples they tested were contaminated with *B. cereus*. Shadlia et al. (2008) also found that over 64.3% of the tested samples contained high counts of *Bacillus* spp (2 log₁₀ CFU/g).

Even though *L. monocytogenes* causes disease in infants (systemic infections; specifically meningitis, dangerous diarrhea, etc.), it has not been isolated in infant food, or even if it has been identified in these products, there is not

enough information to link it directly with the infections. In 2007, it was categorized in Group C in the microorganisms that poses a risk in ready-to use and powdered infant foods by WHO (Anon 2007). In this study, *L. monocytogenes* was identified in three of the analyzed samples (6%) which was quite remarkable.

E. coli was also identified in seven samples (14%) while *C. perfringens*, *E. coli* O157:H7 and *C. sakazakii* were not isolated in any samples.

C. sakazakii is becoming increasingly important, especially in infant foods. There are quite amount of studies investigating the presence of Cronobacter in infant foods, and most of them are focusing on isolation techniques. In one of these studies, Iversen and Forsythe (2004) tested 404 samples of different kinds infant food with various conventional techniques and detected the organism in 3-5% of the samples while In another study, researchers reported that none of the tested infant formulas was contaminated with *C. sakazakii* (Baumgartner et al. 2009).

In conclusion, thirteen of the fifty samples (26%) analyzed in this study failed to comply with the Turkish Regulation having the pathogens that could cause serious health problems in babies. Our findings demonstrated that baby foods and follow-on formulas can be a potential source of food poisoning for infants.

REFERENCES

- Andrews WH, Hammack T (1995).** Salmonella. Chapter 5. In: Bacteriological Analytic Manual, 8th Edt, FDA, US.
- Anonymous (2007).** *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula: Meeting report. World Health Organization and Food and Agriculture Organization Microbiological Risk Assessment Series 6. 2007; Last reviewed/updated 23 February, ISBN: 92 4 156262 5 (WHO)
- Anonymous (2009a).** Turkish Food Codex (TFC) Regulation. Communique amending the communique on infant formulae. Republic of Turkey Official Newspaper Number 06.02.2009 - 27133, Communication Number 2009/9. Ankara, Turkey.
- Anonymous (2009b).** Turkish Food Codex (TFC) Regulation. Infants and young children amendment the communique amending the communique on. Republic of Turkey Official Newspaper Number 06.02.2009-27133, No:2009-11. Ankara, Turkey.
- Anonymous (2002 a, b).** U.S. Food and Drug Administration. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. <http://www.fda.gov/default.htm> Access: 01.08.2014
- Baumgartner A, Grand M, Liniger M, Iversen C (2009).** Detection and frequency of *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) in different categories of ready-to-eat foods other than infant formula. *Int J Food Microbiol*, 136, 189-192.
- Brouard C, Espié E, Weill FX, Kérouanton A, Brisabois A, Forgue AM, Vaillant V, De Valk H (2007).** Two consecutive large outbreaks of *Salmonella enterica* serotype Agona infections in infants linked to the consumption of powdered infant formula. *Pediatr Infect Dis J*, 26, 148-152.
- Chap J, Jackson P, Siqueira R, Gaspar N, Quintas C, Park J, Osaili T, Shaker R, Jaradat Z, Hartantyo SHP, Abdullah Sani N, Estuningsih S, Forsythe SJ (2009).** International survey of *Cronobacter sakazaki* and other *Cronobacter* spp in follow up formulas and infant foods. *Int J Food Microbiol*, 136, 185-188.
- Codex Alimentarius Commission (2008).** Code of hygienic practice for powdered formulae for infants and young children. CAC/RCP 66.
- Ergün F, Ergün Ö (1994).** Ülkemizde tüketime sunulan yerli ve ithal bebek mamalarının genel mikrobiyolojik kaliteleri ve bazı patojenlerin varlığı yönünden incelenmesi. *Gıda*, 19, 373-376.
- Ergün Ö, Aksu H, Arun ÖÖ, Çolak H (2002).** Ülkemizde satılan bebek ve çocuk mamalarında gıda zehirlenmesine neden olan önemli bazı mikroorganizmaların varlığı üzerine araştırmalar. *Gıda*, 27, 253-257.
- Farmer JJ, Kelly MT (1992).** *Enterobacteriaceae*. In: A. Balows (editor). Manual of Clinical Microbiology. ASM, Washington, DC. pp. 360-383.
- Feng P, Weagant SD (2011).** Diarrheagenic *Escherichia coli*. Chapter 4a. In: Bacteriological Analytical Manual, FDA, US.
- Halkman AK (2005).** Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd Şti, Ankara.
- Hanson LA, Korotkova M, Telemo E (2003).** Breast-feeding, infant formula, and the immune system. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 90, 59-63.
- Harrison WF (1998).** Laboratory Methods in Food Microbiology. Third ed., Academic Press, California, USA.
- Hitchins AD (2011).** Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Chapter 10. In: Bacteriological Analytic Manual, FDA, US.
- ISO 6579 (2002).** International Organization for Standardization. Microbiology - General guidance on methods for the detection of Salmonella, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Iversen C, Forsythe S (2004).** Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae from powdered infant Formula milk and related products. *Food Microbiol*, 21, 771-777.
- Iversen C, Forsythe S (2003).** Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk Formula. *Trend Food Sci Tech*, 14, 443-453.
- Kandler O, Weiss N (1986).** Regular, Nonsporing Gram positive rods. Genus Lactobacillus. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (Eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore M D, 1208-1234.
- Seeliger HPR, Jones D (1986).** Genus Listeria. 1235 - 1245. In: PHA Sneath, NS Mair, ME Sharpe, JG Holt (Eds), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. New York.
- Shadlia Matug M, Aidoo KE, Candlish AA, Elgerbi AM (2008).** Evaluation of some antibiotics against pathogenic bacteria isolated from infant foods in North Africa. *The Open Food Sci J*, 2, 95-101.
- Usara MA, Echeita A, Aladueña A, Blanco MC, Reymundo R, Prieto MI, Tello O, Cano R, Herrera D, Martinez - Navarro F (1996).** Interregional foodborne salmonellosis outbreak due to powdered infant formula contaminated with lactose-fermenting *Salmonella virchow*. *Eur J Epidemiol*, 12, 377-381.
- Wang X, Meng J, Zhang J, Zhou T, Zhang Y, Yang B, Xi M, Xia X (2012).** Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from powdered infant Formula milk and infant rice cereal in China. *Int J Food Microbiol*, 153, 142-147.



Prevalence of Infectious and Non-Infectious Diseases in Different Age Groups of Commercial Layer Chicken in Feni District, Bangladesh

Muhammad Belal HOSSAIN¹ Shovon CHAKMA² Abdullah Al NOMAN¹

¹Chittagong Veterinary and Animal Sciences University, Faculty of Veterinary Medicine, Bangladesh

²Bangladesh Agricultural University, Department of Pathology, Mymensingh, Bangladesh

Received: 31.08.2014

Accepted: 18.12.2014

SUMMARY

The pattern of occurrences of poultry diseases in commercial layer farms was studied based on post mortem and other examination of 135 cases either dead or live birds during the period of June to December, 2009 in the district of Feni. In the study highest number of cases of diseases found Salmonellosis (22.79%), Fowl cholera (15.44%), Colibacillosis (10.29%), Necrotic enteritis (08.82%), IBD (08.82%), ND (8.08%), Coccidiosis (9.62%), Lymphoid leucosis (2.20%), Egg Peritonitis (5.15%), Cannibalism (2.94%), Vitamin E deficiency (1.47%) and heat stroke (2.20%). It was very obvious from conducted study that all age groups of birds are susceptible to various diseases but the laying period is most vulnerable, and most mortality of chickens are caused by Salmonellosis, Colibacillosis, Fowl cholera, Infectious bursal disease, Newcastle disease and Necrotic enteritis. The findings indicated that infectious diseases appear to be a major constraint for development of commercial layer farms in Bangladesh which demands immediate attention for prevention and control for assuring the most progressive industry.

Key Words: Infectious, Diseases, Age, Layer, Chicken

ÖZET

Bangladeş Feni İlçesinde Farklı Yaş Gruplarındaki Ticari Yumurtacı Tavuklarda Bulaşıcı Olan ve Bulaşıcı Olmayan Hastalıkların Prevalansı

Bangladeşin Feni ilçesinde bulunan ticari yumurtacı işletmelerinde nekropsi ve diğer teşhis yöntemleriyle kanatlı hastalıklarının dağılımı araştırıldı. Bu amaçla 2009 yılının Haziran-Aralık ayları arasında ölmüş ve canlı olarak toplam 135 kanatlı örneği incelendi. Çalışmada sırasıyla salmonellosis (%22.79), kanatlı kolerası (%15.44), kolibasillozis (%10.29), nekrotik enteritis (%8.82), gumboro (%8.82), Newcastle (%8.08), koksidiyozis (%9.62), Lenfoid lökoz (%2.20), yumurta peritoniti (%5.15), kanibalismus (%2.94), E vitamini eksikliği (%1.47) ve sıcak çarpması (%2.20) vakaları tespit edildi. Araştırmada incelenen kanatlıların tüm yaş gruplarının çeşitli hastalıklara karşı duyarlı olmaları yanında salmonellozis, kolibasillozis, katlı kolerası, gumboro, Newcastle hastalığı ve nekrotik enteritisten kaynaklanan ölümlerin en savunmasız dönem olarak tespit edilen yumurtlama periyodunda olması dikkati çekti. Elde edilen bulgulara göre Bangladeş ticari yumurtacı işletmelerinin gelişimi açısından bulaşıcı hastalıklar önemli bir engel olarak görünmektedir. Bu sektörün ilerleyebilmesi için söz konusu hastalıkların önlenmesinin ve kontrolünün en acil eylem planı olması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: İnfeksiyöz, Hastalıklar, Yaş, Yumurtacı, Tavuk

INTRODUCTION

In Bangladesh, commercial poultry farming has been developed from the last few years, where high yielding strains of chickens are reared in an intensive system. Despite existing favourable agro-climatic conditions, the blooming poultry industry is witnessing a series of problems due to outbreaks of infectious and non-infectious diseases, resulting in mortality which brings high economic losses (Rashid et al., 2013). This is highly sensitive and risk oriented venture and plays a significant role in poverty alleviation and economic development of

Bangladesh. Poultry meat contributes approximately 37% of total animal protein supplied in the country (Rahman and Rahman, 1998). Commercial layer farming with high yielding strains of chickens has expanded rapidly in different areas of the country to satisfy market demands for poultry meat and eggs by the mostly urban, municipal and rural populations. Notwithstanding, the producers are facing numerous problems in farm operations and management (Arbelot et al., 1997). Diseases are considered as the major factor of poultry industry development in Bangladesh causing 30% mortality of

chicken per year (Bhattacharjee et al., 1996).

Among the poultry diseases Newcastle diseases (ND), Infectious Bursal disease (IBD), Avian Colibacillosis (*Escherichia coli* infection), Fowl cholera (FC), Mycoplasmosis, Coccidiosis have been reported in various districts of Bangladesh (Kelly et al., 1994; Chrysostome et al., 1995; Khan et al., 1998; Islam et al., 2006; Hossain et al., 2010). Newcastle disease was common fatal viral diseases for native and commercial poultry in Bangladesh (Talha et al., 2001). Infectious Bursal disease (IBD) is a highly contagious, worldwide occurring viral poultry disease and was first reported in 1992 in Bangladesh with high morbidity and mortality (Mushi et al., 1999). Salmonellosis is one of the most important diseases in poultry that cause serious economic loss due to mortality and reduced egg production (Kumar et al., 1998). Fowl Cholera can affect birds of any age, but it rarely occurs in commercial poultry of less than 8 weeks of age (Rahman and Rahman, 1998). Avian Colibacillosis (*Escherichia coli* infection) is a major infectious disease of all ages of chickens and affects the reproductive tract resulting failure of egg productivity and fertility (Sikder et al., 2005). The most vulnerable age group of layer chickens was laying period followed by growing and puller period (Bhattacharjee et al., 1996; Kumar et al., 1998) where reported Gumboro disease (21.97%) in 0 to 4 weeks of age and Colibacillosis (33.36%) in 0 to 6 weeks of age are the main cause of death of chickens. Salmonellosis can transmit both horizontally and vertically and remain in the flock constantly as subclinical form (Bencina et al., 1988).

Feni is a small south-eastern district of Bangladesh bordering (clockwise from the north) Indian state Tripura, Chittagong district, the Bay of Bengal, Noakhali district and Comilla district of Bangladesh. Since 1990s, commercial chicken farming was getting popular in Feni and now it has emerged as one of the growing poultry belt in Bangladesh. Though there are plenty of farms were established here, lack of scientific farming knowledge, proper bio-security, and lack of epidemiological research hindering this industry. Therefore, the present study was undertaken to determine the trends of infectious and non-infectious diseases affecting commercial layer birds in the study area.

MATERIALS and METHODS

The study was conducted to observe the prevalence of different diseases of layer chicken at Feni district of Bangladesh. A total of 135 either dead or sick layer chickens were brought to the upazila veterinary hospital and field diseases investigation laboratory (FDIL), Feni from various layer farms of Feni district during the period of June through December 2009. The diagnosis of different diseases was done based on the history of the flock, age of affected birds, clinical signs and symptoms, post mortem lesions for respective diseases. All viral diseases were diagnosed based on necropsy with characteristic pathognomonic lesions, bacterial diseases were confirmed by isolation and identification of causal agents by microbiological procedures. Protozoal diseases were confirmed by cecal smear and non-infectious diseases were diagnosed by necropsy and clinical histories obtained from the farmers. Data were collected with special emphasized on age of birds. The bird was examined systematically and the observed post-mortem changes were recorded during necropsy. All disease and epidemiological data were entered into a spreadsheet program (Excel 2007; Microsoft Corporation) and transferred to SPSS 16 (SPSS South Asia Pvt. Ltd.,

Bangalore-560043) statistical software for data analysis and summary.

RESULTS

Of the 135 layer birds, 125 (91.91%) were infectious and 9 (6.62%) were non-infectious cases. The highest case of diseases were recorded in laying period (59.56%), followed by grower (24.26%) and pullet (16.18%) birds. Prevalence of layer chicken diseases at Feni district of Bangladesh was shown in Table 1. The highest number of cases were recorded in the laying birds age group 20-72 week (59.56%), followed by 0-8 weeks age group (16.91%), 9-20 weeks age group (15.44%), of poultry. Among the viral diseases, IBD and ND constituted 8.82% and 8.08% of total mortality, respectively. Outbreaks of both ND occurred mostly in the 20-72 weeks age group and then 8-20 days age group followed by other age groups (Table 1). IBD was recorded highest in grower birds 0-8 weeks of age group (6.62%) followed by pullet birds (2.20%) and not found in laying stage. Other than ND and IBD, Lymphoid leukosis was recorded in laying birds 20-72 weeks age group (2.20%) and not found in grower or pullet birds. Most of the flocks where IBD were recorded are vaccinated. Our findings predicted that, the vaccination program maintained by the farmers may not giving proper immunization effectively to protect the birds. The present findings would indicate that the reemergence of ND in commercial flocks is still a threat to the poultry industry inspite of availability use of ND vaccines. It is important to be investigated if the re-emergence of ND is due to vaccination failure or any other factor.

Apart from viral infection among the other diseases, it was observed that Salmonellosis (22.79%), Fowl cholera (15.44%), Colibacillosis (10.29%), Necrotic enteritis (8.82%), and Egg peritonitis (5.15%), were the major causes of poultry diseases. Other common diseases were Mycoplasmosis (2.20%), Coccidiosis (9.62%) respectively. Among non-infectious diseases cannibalism, vitamin E deficiency and heat stress were common in laying stage (5.88%) of layer birds.

DISCUSSION and CONCLUSION

In the study highest numbers of cases of disease was recorded during laying period (59.56%) followed by growing stage (24.26%) and lowest in pullet (16.18%) birds. These findings disagree with the earlier report (Kumar et al., 1998) that recorded highest mortality of chickens was 71.92% in layer, followed by 21.01% in grower and 7.09% in pullets. It was likely due to persistent and high ambient temperature and geographical position which might play role in diseases trends of the present study.

Diseases wise analyses revealed that 13 different infectious and non-infectious causes have been recognized to be associated as the causes of mortality in layer chickens. The leading causes of mortality in layer are Salmonellosis which contributed to 23% of total death. The most vulnerable age group of layer chickens was laying period followed by growing and puller period which are not in conformity with the earlier reports (Bhattacharjee et al., 1996; Kumar et al., 1998) who recorded Gumboro disease (21.97%) in 0 to 4 weeks of age and Colibacillosis (33.36%) in 0 to 6 weeks of age are the main cause of death of chickens. This finding is supported by earlier researchers (Sikder et al., 2005; Hossain et al.,

2010) who observed 37.6%, 43.4%, 23.8% and 23.46% prevalence of Salmonellosis in layer chicken, respectively. The prevalence was also can varied in terms of age groups. Diseases trends increase with the age of birds which supports the findings of earlier researcher (Sikder et al., 2005).

In spite of maintaining regular vaccination schedules, ND is still a great threat to the poultry industry of Bangladesh and a number of outbreaks have been recorded even in vaccinated chicken flocks. One of the causes for outbreaks

in vaccinated chickens might be the introduction of new ND virus strains against which the local birds have no or very low immunity, leading to vaccine failure. Other factors like poor vaccine quality is a common problem in developing countries and can be the result of poor manufacturing standards, lack of adequate storage facilities, application of expired vaccine batches, faulty application and vaccine handling during transportation (Rashid et al., 2013).

Table 1. Occurrence of diseases in layer birds in correlation with age

Sl. no	Diseases	Grower (up to 8 weeks)	Pullet (9-20 weeks)	Layer (>20 weeks)	Total no. of diseases
A.	Infectious Diseases	23 (16.91)	21 (15.44)	81(59.56)	125 (91.91)
	<u>Viral Diseases</u>	11 (8.09)	5 (3.68)	10 (7.35)	26 (19.12)
1	New Castle Disease	2 (1.47)	2 (1.47)	7 (5.14)	11 (8.08)
2	Infectious Bursal Disease	9 (6.62)	3 (2.20)	--	12 (8.82)
3	Lymphoid Leukosis	--	--	3 (2.20)	3 (2.20)
	<u>Bacterial Diseases</u>	11 (8.09)	12 (8.82)	62 (45.59)	85 (62.5)
4	Salmonellosis	5 (3.68)	4 (2.94)	22 (16.17)	31 (22.79)
5	Fowl Cholera	--	1 (0.74)	20 (14.71)	21 (15.44)
6	Colibacillosis	6 (4.41)	5 (3.68)	3 (2.20)	14 (10.29)
7	Necrotic Enteritis	--	02 (1.47)	10 (7.35)	12 (8.82)
8	Egg Peritonitis	--	--	7 (5.14)	7 (5.15)
	<u>Mycoplasma Diseases</u>	1 (0.74)	2 (1.47)	--	3 (2.20)
9	Mycoplasmosis	1 (0.74)	2 (1.47)	--	3 (2.20)
	<u>Protozoal Diseases</u>	10 (7.40)	2 (1.47)	1 (0.74)	13 (9.62)
10	Coccidiosis	10 (7.40)	2 (1.47)	1 (0.74)	13 (9.62)
B.	Non-infectious Diseases	00	1 (0.74)	8 (5.88)	9 (6.62)
1	Cannibalism	--	1 (0.74)	3 (2.20)	4 (2.94)
2	Vitamin E Deficiency	--	--	2 (1.47)	2 (1.47)
3	Heat stroke/stress	--	--	3 (2.20)	3 (2.20)
	Total diagnosed	33 (24.26)	22 (16.18)	81 (59.56)	136

Infectious Bursal disease had been recorded 12 cases where 87% cases were found during growing period which can hamper the growth of pullets and of a great concern of IBD vaccination. Prevalence of Mycoplasmosis in commercial layer chickens showed that MG infection poses a major problem for chickens reared in commercial poultry farms and Government farms. Prevalence of Mycoplasmosis seems very lesser in our study; only three cases had been detected. This may be due to the adding of anti-mycoplasma drugs onto the feed and considerable awareness among the farmers as its very important disease from the point of economic view. Our findings concordant with previous reports from several countries of the world including Benin, Botswana, India, Malaysia, Senegal, Zambia, and Zimbabwe (Kelly et al., 1994; Chrysostome et al., 1995; Shah-Majid, 1996; Arbelot et al., 1997; Pandey and Hasegawa, 1998; Mushi et al., 1999).

Heat stress and water deprivation also lead to production of steroids and thus resultantly immune suppression (Sil et al., 2002). Quality of water which is offered to the birds was also found questionable which might hamper the development of specific immunity possibly due to acid base imbalance. Unsuitable vaccination schedule also leads to the neutralization of maternally derived antibodies and resultantly making the birds more susceptible to the

infection. In the present study prevalence of Coccidiosis have been recorded 13 cases (9.6%) where growing and laying stage had the similar chance to get infected. In fact Coccidiosis controlling in layer birds is not quite easy job for its wide range of infections habit and nature of the organism but in the study, we had found farmers usually added coccidiostats in the feed and water.

Fowl cholera was recorded 15%, had shown most frequently affected the birds in laying periods and absent in early stage of the birds. This finding supports an earlier report (Bhattacharjee et al., 1996), who reported 2.77% death due to Fowl cholera during laying stage and which is six times higher than grower period. During our study, it was extensively observed that, Necrotic enteritis can also affect the total production performance of the farm. It could dramatically fall the egg production which was obvious and seems to be another economically significant diseases for the layer chicken. Among the egg laying birds, egg peritonitis was recorded 5.15% which was found to be 2.5% lesser than those of the earlier report (Bhattacharjee et al., 1996), who recorded 16.77% deaths due to egg peritonitis in the laying period in age from 20 weeks to rest of the age.

In conclusion, it may be mentioned that layer chicken aged between 20-72 weeks of age are most vulnerable to

various diseases, and the most prevalent diseases like IBD, ND, Lymphoid leukosis, Salmonellosis, Fowl cholera, Colibacillosis, Necrotic enteritis, Mycoplasmosis, Coccidiosis, Cannibalism, Vitamin E deficiency and heat stroke demand immediate attention for prevention and control.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to extend thanks Dr. Nazmul Hoque, veterinary surgeon of Feni sadar and veterinary field technicians during the study period for their invaluable support to conduct the study.

REFERENCES

- Arbelot B, Dayon JF, Mamis D, Gueye JC, Tall F, Samb H (1997).** Seroprevalence survey of dominant avian diseases in Senegal: mycoplasmosis, fowl typhoid and pullorum disease, Newcastle, infectious bursal and infectious bronchitis diseases. *Rev Elev Med Vet Pay*, 50, 197-203.
- Bencina D, Tadina T, Dorrer D (1988).** Natural infection of ducks with *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* and mycoplasma egg transmission. *Avian Pathol*, 17, 441-449.
- Bhattacharjee PS, Kundu RL, Biswas RK, Mazumder JU, Hossain E, Miah AH (1996).** A retrospective analysis of chicken diseases diagnosed at the Central Disease Investigation Laboratory, Dhaka. *Bangladesh Vet J*, 30, 105-113.
- Chrysostome CAAM, Bell JG, Demey F, Verhulst A (1995).** Sero prevalences to three diseases in village chickens in Benin. *Prev Vet Med*, 22, 257-261.
- Hossain KMM, Hossain MT, Yamato I (2010).** Seroprevalence of *Salmonella* and *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens in Rajshahi and surrounding districts of Bangladesh. *Int J Biol*, 2, 74.
- Islam MM, Haider MG, Chowdhury EH, Kamryzzaman M, Hossain MM (2006).** Seroprevalence and pathological study of *Salmonella* infections in layer chickens and isolation and identification of causal agents. *Bangladesh J Vet Med*, 4, 79-85.
- Kelly PJ, Chitaur D, Rohde C, Rukwava J, Majok A, Davelaar F, Mason PR (1994).** Diseases and management of backyard chicken flocks in Chitungwiza, Zimbabwe. *Avian Dis*, 626-629.
- Khan MA, Bari ASM, Islam MR, Das PM, Ali MY (1998).** Pullorum disease in semi naked chicks and its experimental Pathology. *Bangladesh Vet J*, 32, 124-128.
- Kumar VP, Singh JP, Mahalati S (1998).** Effect of year, session sex and diseases on morality of commercial flock. *Indian J Poul Sci*, 33, 217-220.
- Mushi EZ, Binta MG, Chabo RG, Mathaio M, Ndebele RT (1999).** Detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* antibodies in the sera of indigenous chickens by rapid serum agglutination test at Mmopane, Gaborone, Botswana. *Onderstepoort J Vet*, 66, 333-334.
- Pandey GS, Hasegawa M (1998).** Serological survey of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in chickens Zambia. *B Ani Health Prod Africa*, 46, 113-117.
- Rahman MM, Rahman A (1998).** Cattle and poultry development activities. In: *Kromobikash O Karjakrom* (1st ed.), Directorate of Livestock Services (DLS), Bangladesh.
- Rashid MH, Xue C, Islam MR, Islam T, Cao Y (2013).** A longitudinal study on the incidence of infectious diseases of commercial layer birds in Bangladesh. *Prev Vet Med*, 109, 354-358.
- Shah-Majid M (1996).** Detection of *Mycoplasma gallisepticum* antibodies in the sera of village chickens by the enzyme-linked immunosorbent assay. *Trop Anim Health Pro*, 28, 181-182.
- Sikder AJ, Islam MA, Rahman MM, Rahman MB (2005).** Seroprevalence of *Salmonella* and *Mycoplasma galisepticum* infection in the six model farms at Patuakhali district of Bangladesh. *Int J Poul Sci*, 4, 905-910.
- Sil GC, Das PM, Islam MR, Rahman MM (2002).** Management and disease problems of Cockerels in some farms of Mymensingh, Bangladesh. *Int J Poul Sci*, 1, 102-105.
- Talha AFSM, Hossian MM, Chowhury EH, Bari ASM, Islam MR, Das PM (2001).** Poultry diseases occurring in Mymensingh district of Bangladesh. *Bangladesh Vet*, 18, 20-23.



The First Case of *Rhipicephalus turanicus* from Red Hawk (*Buteo rufinus*) in Van

Bekir OĞUZ¹ Serdar DEĞER¹ Nalan ÖZDAL¹ Kamile BİÇEK¹
Özlem ORUNÇ KILINÇ² Loğman ASLAN³

¹ Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Van, Turkey

² Yüzüncü Yıl University, Ozalp Vocational School, Department of Medical Laboratory Techniques, Van, Turkey

³ Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Van, Turkey

Received: 11.11.2014

Accepted: 08.01.2015

SUMMARY

Ticks are considered significant in veterinary, either by acting as vectors of serious pathogens. The present study was carried out to survey ticks those infesting red hawk. A wounded red hawk was brought to the veterinary surgery clinic in Van, July 2010 with the complaint of injury. On examination, around the eyes of red hawk, 11 adult ticks (11 females) were found. Whole crucial characters of collected samples were studied with the help of stereo microscope. The collected ticks were identified *Rhipicephalus turanicus*. *Rhipicephalus turanicus* was recorded from the red hawk (*Buteo rufinus*) for the first time in Turkey.

Key Words: Tick, *Rhipicephalus turanicus*, Ectoparasite, Red Hawk, Van

ÖZET

Van'da Bir Kızıl Şahinde (*Buteo rufinus*) İlk *Rhipicephalus turanicus* Olgusu

Keneler birçok patojenin vektörlüğünde rol oynadıkları için veteriner hekimlikte önemli kabul edilirler. Bu çalışma bir kızıl şahinde görülen kene enfestasyonu üzerine yürütülmüştür. Van'da Temmuz 2010 yılında veteriner cerrahi kliniğine yaralanma şikâyetiyle getirilen kızıl şahinin göz çevresinde 11 ergin dişi kene toplandı. Stereo mikroskop altında incelenen kenelerin *Rhipicephalus turanicus* türü olduğu teşhis edilmiştir. *Rhipicephalus turanicus* bu çalışmayla Türkiye'de, kızıl şahinde ilk kez tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kene, *Rhipicephalus turanicus*, Ektoparazit, Kızıl Şahin, Van

GİRİŞ

Keneler birçok patojenin vektörlüğünde rol oynadıkları için veteriner hekimlikte önemli kabul edilirler. Ayrıca, hayvancılık sektöründe ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Larry ve Janovy 2006). Ixodidae ailesinde, yaklaşık 682 tür bulunur. Bu türlerin bazıları kuşlar ve reptillerde parazitlenirken, büyük bir kısmı yabani hayvanlarda parazitlenir (Cupp 1991). Türkiye subtropikal iklim kuşağında yer alması, bitki örtüsü ile vahşi ve evcil hayvan sayı ve çeşitliliği bakımından kenelerin yaşamasına uygun bir ülkedir (Karaer ve ark. 1997). Ülkemizde yapılan bir araştırmada, Türkiye'de 32 kene türü tanımlı olup bunlar iki familyada (Ixodidae ve Argasidae) ve 10 soyda (*Ixodes*, *Amblyomma*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Argas*, *Ornithodoros*, *Otobius*) sınıflandırılmış ve bu kenelerin memelileri, sürüngenleri ve kuşları enfekte ettikleri tespit edilmiştir. *Ixodes* spp.'ye çoğunlukla Türkiye'nin kuzey kesimlerinde rastlanılmakta ve bunun muhtemel sebepleri arasında bu bölgenin sürekli yağış alması ve ormanın çok olması gösterilmektedir. *Amblyomma variegatum* türlerine Suriye sınırında Hatay yöresinde rastlanmıştır (Aydın 1994). *Hyalomma*,

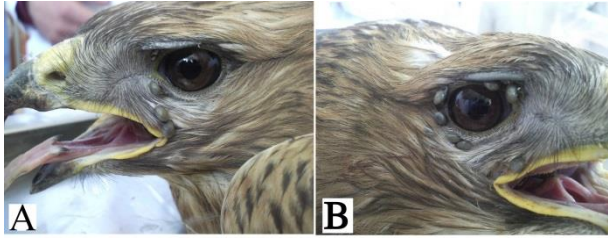
Haemaphysalis, *Dermacentor*, *Boophilus* ve *Rhipicephalus* türleri ise tüm Anadolu boyunca yaygındır (Hoogstraal 1959). Türkiye'de *Rhipicephalus* soyuna ait *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus* türleri bulunmaktadır (Vatansever 2008). Bu kene türlerinden gelişmesini üç konakta tamamlayan *Rhipicephalus turanicus* Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarında birçok ülkede bulunurken yurdumuzun Trakya, Karadeniz, İç ve Doğu Anadolu bölgelerinde, sığır, koyun, keçi başta olmak üzere, evcil ve bazı yabani hayvanlarda rastlanmıştır (Karaer ve ark. 1997). *Rhipicephalus turanicus*'un gelişim safhaları genellikle kirpi, gerbil, yabani tavşan ve muridae familyasına bağlı rodentleri enfeste ederler. Vahşi karnivorlar ve yerden beslenen kuşlar üzerinde beslenmeye yüksek eğilimi vardır (Estrada-Pena ve ark. 2004). Temel besini karada yaşayan küçük ve orta boy memeliler olan kızıl şahin (*Buteo rufinus*) orta boylu ve geniş kanatlı bir yırtıcıdır. Genel olarak baş ve göğüs rengi oldukça açık, buna karşılık bögür ve karın bölümleri daha koyu renklidir. Sırtı kızıl-kahve tonlarda olup koyu desenler taşır. Kuyruk genellikle tüm gövde renginden daha açık tonda bir kıızıdır. Türkiye'de hemen her bölgede görülmekle birlikte İç Ege, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu platolarında çok daha yaygındır

(Anonim 1; Anonim 2). Ayrıca bu yabancı kuşların keneler dâhil birçok artropoda konaklık yaparak bazı hastalıkların önemli rezervuarı oldukları bildirilmektedir (Syrucak ve Raska 1956).

Bu olgumuzda bir kızıl şahinde (*Buteo rufinus*) litarütürlerde az rastlanan Ixodid kene enfestasyonu sunulmuştur.

OLGU SUNUMU

Temmuz 2010 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hastanesi Cerrahi Anabilim Dalına yaralı halde getirilen kızıl şahinin göz çevresindeki keneler toplanarak %70'lik etil alkol içeren şişelere konulmuştur. Kenelerin teşhislerinde gnathosoma (palp, hipostom ve şeliserler), basis capituli, porose area, scutumdaki nokta ve çukurluklar ile gözün yapısı, stigma ve genital deliğin yapısı literatürdeki (Estrada-Pena ve ark. 2004) morfolojik özelliklerine göre stereo mikroskop ile yapılmıştır. İncelenen 11 ergin dişi kenenin Ixodidae ailesine bağlı *Rhipicephalus turanicus* türü olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 1. Sol (A) ve Sağ (B) göz çevresindeki kene enfestasyonu

Figure 1. Tick infestation around the left (A) and right (B) eyes



Şekil 2. Dişi *R. turanicus*; A- Dorsal görünüm, B- stigma C- 1. Coxa, D- scutum, E- gnathosoma, F- genital delik, G- Ventral görünüm

Figure 2. Female *R. turanicus*; A- Dorsal view, B- Stigma C- Coxa 1, D- Scutum E- Gnathosoma, F- Genital aperture, G- Ventral view

TARTIŞMA ve SONUÇ

Keneler, dünyanın birçok yerinde yaygın olarak bulunan, başta memeliler ve kuşlar olmak üzere tüm omurgalı canlılardan gelişme dönemlerinin tamamında kan emmek zorunda olan ektoparazitlerdir. Günümüzde dünyada tespit edilen 899 kene türü vardır. Bu kene türlerinin

713'ü Ixodidae, 185'i Argasidae ve biri Nuttalliellidae ailesindedir (Karaer ve ark. 1997). Türkiye'de Nuttalliellidae ve Anocenter soyları hariç 32 kene türü yaygın olarak bulunmaktadır (Aydın 1994; Karaer ve ark. 1997; Aydın ve Bakırcı 2007) . Keneler her gelişme dönemlerinde gömlek değiştirirler. Ixodidae keneleri kan emme dönemleri ve buna bağlı olarak larva, nimf ve ergin dönemlerini türlere göre değişen sayıda konakta tamamlarlar. Bu özelliklerine göre bir, iki ve üç konaklı keneler olabilirler (Jongejan ve Uilenberg 2004). *Rhipicephalus turanicus*'un köpek ve insanlar dâhil olmak üzere oldukça geniş konak çeşitliliği vardır (Ioffe-Uspensky ve ark. 1997). *Rhipicephalus turanicus* üç konaklı kene olarak bilinir. Genellikle ilkbahar sonlarından yazı kadar fazla sayıda bulunurlar. Gelişim safhaları genellikle kirpi, gerbil, yabancı tavşan ve muridae familyasına bağlı rodentleri enfeste ederler. Erişkin keneler Akdeniz Bölgesinde çoğunlukla koyunlarda ağır enfestasyonlar oluşturur. Bazen atlar üzerinde görülür. Vahşi karnivorlar ve yerden beslenen kuşlar üzerinde beslenmeye yüksek eğilimi vardır (Estrada-Pena ve ark. 2004). Kızıl şahinin temel besinini küçük ve orta boy memeliler oluşturur. Tarla fareleri, yer sincapları (gelengi), tavşanlar; ayrıca sürüngenler (kertenkele ve yılanlar) en çok yöneldiği avlardır (Anonim 2) . Bu sebeple kızıl şahinin yerden beslenmesi esnasında kene enfestasyonuna maruz kalmış olabileceğini akla getirir.

Uys ve Horak (2005), Güney Afrika'da üç keklükte (*Francoisina sephaena*), Silva ve ark. (2006), Bayağı şahin (*Buteo buteo*)'de, Yousefi ve ark. (2011), İran'da ak göğüslü bir kirpide (*Erinaceus concolor*), *R. turanicus* tespit etmişlerdir. Al-Rammhi ve ark. (2013), Irak'da yabancı tavşanların üzerinden topladıkları kenelerin *R. turanicus* ve *Rhipicephalus leporis* türleri olduklarını tespit etmişlerdir. Friedemann ve ark. (2013), İsrail'de kısa parmaklı kartal (*Circaetus gallicus*) yuvasında *Rhipicephalus* sp. larvası tespit etmişlerdir. Shubber ve ark. (2014), Irak'da Asya çakalında (*Canis aureus*), su samurlarında (*Lutra lutra*), yaban domuzlarında (*Sus scrofa*) ve hint porsuğunda (*Mellivora capensis*) *R. turanicus* enfestasyonun yoğun olduğunu bildirmişlerdir. Olgumuzda bir kızıl şahinde *R. turanicus* enfestasyonu tespit edilmiştir. Bu olgu Ixodidae türlerinin büyük bir çoğunluğunun geniş bir konakçı spektrumu göstermelerini, hem memelilerden hem de kanatlı (vahşi kuşlar dâhil) ve sürüngenlerden kan emerek gelişmelerini tamamlayabilmeleri yönünden yukarıda adın geçen çalışmaları desteklemektedir. Ayrıca, *R. turanicus*'un kızıl şahinde (*Buteo rufinus*) Türkiye'de görüldüğüne dair herhangi bir literatüre rastlanılmamıştır. Kızıl şahin bu olgu ile bu kene türünün yeni bir rezervuarı olarak kabul edilebilir.

KAYNAKLAR

- Al-Rammhi HM, Mohammad MK, Mohammad MH (2013).** Tick infestation of hares (*Lepus Capensis*) in Alqasim District-Babylon, Iraq. *Euphrates J Agr Sci*, 5, 1, 8-14.
- Anonim 1.** <http://mustafagallen.com/28-kuslar/yirtici-kuslar/94-kizil-sahin>. Erişim tarihi: 27.11.2014.
- Anonim 2.** <http://mustafagallen.com/28-kuslar/yirtici-kuslar/94-kizil-sahin>. Erişim tarihi: 10.12.2014
- Aydın L (1994).** Güney Marmara Bölgesi Ruminantlarında Görülen Kene türleri ve Yayılışları: (Doktora Tezi), Bursa.
- Aydın L, Bakırcı S (2007).** Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res*, 101,163-166
- Cupp EW (1991).** Biology of ticks. *Vet Clin North America: Small Anim Pract*, 21, 1-24, Sonenshine DE, *Biology of Ticks*. New York: Oxford University Press, pp. 51-54.

- Estrada-Pena A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR (2004).** Tick of domestic animals in the Mediterranean Region: a Guide to Identification of Species. Published by Universty of Zaragoza, Spain.
- Friedemann G, Izhaki I, Leshem Y, Mumcuoglu KY (2013).** Alternative nest-building behavior of the Long-legged Buzzard (*Buteo rufinus*) and the Short-toed Eagle (*Circaetus gallicus*) in the Judean Foothills, and the parasitic and non-parasitic arthropod fauna in their nests. *Israel J Entomol*, 43, 11-19.
- Hoogstraal H (1959).** Biological Observation on Certain Turkish Haemaphysalis Ticks (Ixodidae). *J Parasitol*, 45, 227-232.
- Ioffe-Uspensky I, Mumcuoglu KY, Uspensky I, Galun R (1997).** *Rhipicephalus sanguineus* and *R. turanicus* (Acari: Ixodidae): Closely related species with different biological characteristics. *J Med Entomol*, 34, 74-81.
- Jongejan F, Uilenberg G (2004).** The global importance of ticks. *Parasitology*, 129: 3-14.
- Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L (1997).** Türkiye keneleri ve vektörlükleri, "Özcel MA, Daldal N (eds): Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları ve Vektörler" kitabında s.363-434, Türk Parazitoloji Derneği Yayın No: 13, İzmir.
- Larry S, Janovy J (2006).** Foundations of parasitology. 7th ed. MC Graw Hill Companies, pp: 590.
- Santos-Silva MM, Sousa R, Santos AS, Melo P, Encarnaçao V, Bacellar F (2006).** Ticks parasitizing wild birds in Portugal: detection of *Rickettsia aeschlimannii*, *R. helveticaand*, *R. massiliae*. *Exp Appl Acaro*, 39, 331-338.
- Shubber HWK, Al-Hassani NA, Mohammad MK (2014).** Ixodid ticks diversity in the middle and south of Iraq. *Int J Recent Sci Res* 5, 9, 1518-1523.
- Syrucsek L, Raska K (1956).** Q fever in domestic and wild birds. *Bull WHO*, 15, 329-337.
- Vatansever Z (2008).** [http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/Keneler % 20 ve % 20CCHF.pdf](http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/Keneler%20ve%20CCHF.pdf). Erişim tarihi: 10.12.2014
- Uys AC, Horak IG (2005).** Ticks on crested francolins, *Francolinus sephaena*, and on the vegetation on a farm in Limpopo Province, South Africa. *Onderstepoort J Vet Res*, 72, 4, 339-43.
- Youssefi MR, Rahimi MT, Hosseini SM, et al (2011).** First report of *Rhipicephalus turanicus* from hedgehog (*Erinaceus con-color*) in North of Iran. *World J Zool*, 6, 4, 401-403.



Van Veterinary Journal

<http://vfdergi.yyu.edu.tr>



ISSN: 2149-3359

Review

Role of Beta Glucan in Animal Nutrition

Çagri KALE Nuriye Tugba BINGOL

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Van, Turkey

Received: 08.04.2014

Accepted: 15.05.2014

SUMMARY

Antibiotics, as feed additive, have been used in animal nutrition for many years. But, in addition to the positive results of the antibiotic usage in recent years, because of some negative results, investigators have focused on alternative feed additives which can be used instead of these feed stuffs. β -glucan is one of the feed additives which is used as an alternative to antibiotics. β -glucan is a non-starch polysaccharide which is obtained from bacteria, yeast, mushroom, lichen and from cell walls of the feed grains like barley, corn and rye. Lately; β -glucan starts getting more popular due to both it has positive effects on animals and it doesn't cause negative effects like antibiotics. In this review; it will be discussed β -glucan's effects on immune system, performance and blood parameters in animal nutrition.

Key Words: β -glucan, Immune system, Performance, Blood parameters

ÖZET

Beta-Glukanın Hayvan Beslemedeki Rolü

Antibiyotikler yem katkı maddesi olarak hayvan beslemede uzun yıllar kullanılmıştır. Fakat son yıllarda antibiyotiklerin hayvan beslemede kullanılmasının olumlu sonuçları yanında, bazı olumsuz sonuçları nedeniyle araştırmacılar bu maddelerin yerine kullanılacak alternatif yem katkı maddeleri üzerinde çalışmalara yoğunlaşmıştır. Antibiyotiklere alternatif olarak kullanılan yem katkı maddelerinden bir tanesi beta-glukandır (β - glukandır). β -glukan; bakteri, maya, mantar ve likenler ile arpa, yulaf ve çavdar gibi tane yemlerin hücre duvarlarından elde edilen ve nişasta olmayan bir polisakkarittir (NOP). Son zamanlarda; hem hayvanlar üzerindeki olumlu etkilerinden, hem de antibiyotikler gibi olumsuz etkileri olmadığından β -glukana olan ilgi artmıştır. Bu derlemede; β -glukanın hayvan beslemede immun sistem, performans ve kan parametreleri üzerine olan etkilerinden bahsedilecektir.

Anahtar Kelimeler: β -glukan, İmmun sistem, Performans, Kan parametreleri

GİRİŞ

Hayvan beslemede yem katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotikler; büyüme performansı ile yemden yararlanma oranını artırması yanında hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde etkilidirler (Karademir ve Karademir 2003; Keser ve Bilal 2008). Fakat kullanılan bu antibiyotikler zamanla hayvanlarda bakteriyel direnç gelişmesine sebep olmaları yanında aynı zamanda hayvansal ürünlerde bıraktıkları kalıntılar ile insan sağlığını tehdit etmektedirler. Bu nedenle Avrupa Birliği ile ülkemizde 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren antibiyotiklerin hayvan beslemede kullanımları yasaklanmıştır (Keser ve Bilal 2008). Bu nedenle antibiyotiklere alternatif olarak kullanılacak yem katkı maddeleri üzerinde çalışmalar artmıştır. Bu amaçla probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler, enzimler ve beta-glukanlar gibi yem katkı maddeleri antibiyotiklere alternatif olarak kullanılmaktadır (Karademir ve Karademir 2003; Erdoğan ve ark. 2007; Keser ve Bilal 2008).

Antibiyotiklere Alternatif Yem Katkı Maddeleri

Probiyotikler

Probiyotikler; bağırsak mikroflorasını konakçı hayvan lehine geliştirerek yararlı etkiler oluşturan tek veya karışık canlı mikroorganizma (bakteri, maya veya mantar) kültürleridir. Probiyotik mikroorganizmalar, genel olarak Basilluslar (gram pozitif spor oluşturan bakteriler), laktik asit üreten bakteriler (*Laktobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*) ve mayalar olmak üzere üç kategoride toplanmaktadır. Probiyotikler; salgıladıkları laktik, asetik ve formik asitler ile ortam pH'sını düşürdükleri için; patojen mikroorganizmaların çoğalmasını önlerler, bağırsak villuslarına patojen mikroorganizmalardan daha önce tutunarak onların barınmalarını engellerler, çeşitli sindirim enzimleri salgılayarak sindirime katkı sağlarlar ve aynı zamanda immun sistemi güçlendirici etki gösterirler (Erdoğan ve ark. 2007; Karademir ve Karademir 2003; Kocaoğlu Güçlü ve Kanber 2009; Ergün ve ark. 2011).

Prebiyotikler

Prebiyotikler; hayvan organizmasında sentezlenen sindirim enzimleri ile parçalanamayan fakat kalın bağırsaklarda yaşayan mikroorganizmalar tarafından fermente edilebilen, *Bifidobakteri* ve *Laktobasiller* gibi yararlı Gram pozitif bakterilerin büyümesini stimüle ederek konakçı hayvanlarda yararlı etkiler oluşturan sindirilemeyen polisakkaritler ve oligosakkaritler olarak tanımlanır (Erdoğan ve ark. 2007). Bu grup içerisinde mannanoligosakkaritler (MOS), fruktoooligosakkaritler (FOS), inulin ve humektanlar yer almaktadır (Kocaoğlu Güçlü ve Kanber 2009). Prebiyotikler yararlı mikroorganizma sayısını artırır, patojen olanların sayısını azaltır. Prebiyotikler, kalın bağırsaktaki yararlı bakteriler tarafından fermente edilerek kendilerinin büyümesi ve çoğalması için besin maddesi olarak kullanmalarının yanında laktik, asetik, propiyonik ve butirik asit üreterek ortam pH'sını düşürürler, böylece zararlı Gram negatif mikroorganizmaların çoğalmasını engellerler.

Ayrıca patojen mikroorganizmaları ortamdaki uzaklaştırarak immun sistemi güçlendirirler (Erdoğan ve ark. 2007; Kocaoğlu Güçlü ve Kanber 2009; Ergün ve ark. 2011).

Organik asitler

Organik asitler; hayvan ve bitkilerde doğal olarak bulunan karboksilik (COOH) bileşiklerdir. Formik asit, asetik asit, propiyonik asit, butirik asit, fumarik asit ve sitrik asit bu asitlerdendir. Bu asitler barsak pH'sını düşürerek zararlı mikroorganizma sayısını azaltır, mide pH'sını düşürerek enzim aktivitesini artırır, dolayısıyla da protein sindirimini artırır, enerji üretiminde kullanılır (Ergün ve ark. 2011).

Beta-Glukan

Beta-glukan (β -glukan) bir polisakkarittir. Arpa, yulaf ve çavdar gibi tane yemlerin hücre duvarı unsuru olarak bulunur. Bunlardan başka bazı bakteri, maya ve mantarların da hücre duvarlarının önemli bileşenlerindedir. Özellikle ekme mayası olarak bilinen *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilebilmektedir. β -glukanlar immun sistem hücrelerini bazı özel reseptörler aracılığı ile aktif hale getirdikleri için iyi bir immun uyarıcı olarak bilinirler. Bu nedenle de antibiyotiklere alternatif olarak kullanılmaktadırlar (Akramiye ve ark. 2007; Keser ve Bilal 2008; Anonim 2013a; Anonim 2013b; Anonim 2013c).

Beta-Glukanın Kimyasal Yapısı: β -glukan; bazı bakteri, maya ve mantar gibi mikroorganizmalar ile arpa, yulaf ve çavdar gibi tane yemlerin hücre duvarlarında bulunan ve birbirlerine β -glikozidik bağlarla bağlanmış D-glukoz monomerlerinden oluşan nişasta olmayan bir polisakkarittir (Keser ve Bilal 2008; Anonim 2013a; Anonim 2013b; Anonim 2013c). β -glukanlar glikoz moleküllerinin bağlanma şekillerine göre farklı yapılarda olurlar. Maya ve mantarların hücre duvarlarında bulunan β -glukanlar az sayıda 1,6 β bağlı dallar ile 1,3 β bağlı glikopiranosil kalıntılarında oluşurken, arpa ve yulaf hücre duvarlarındaki β -glukanlar 1,3 ve 1,4 β bağlı glikopiranosil kalıntısı içeren dalsız β -glukanlardır. Bakterilerde ise 1,3 β bağlı glikopiranosil kalıntısı içeren dalsız β -glukanlar bulunur (Keser ve Bilal 2008). Tahıl kaynaklı β -glukanlar suda çözünürlerken, maya ve mantarlardan elde edilen β -glukanlar suda çözülmezler. Suda çözünen ve çözünmeyen β -glukanların etki mekanizmaları arasında farklılıklar vardır. Suda çözünmeyen β -glukanlar özellikle immun sistem üzerinde olumlu etkilere sahiptirler

Beta-Glukan Kaynakları: β -glukanlar; *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans* gibi bakterilerden, *Aspergillus fumigatus*, *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Schizophyllum commune* ve *Sclerotinia sclerotiorum* gibi mantarlardan ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi mayalardan elde edilebilmektedir (Akramiye ve ark. 2007). Bunlar dışında arpa, yulaf ve çavdar gibi tahıl tanelerinden de β -glukanlar elde edilirler. Tahıl taneleri içerisinde β -glukan yoğunluğu en fazla olan yulafır (Anonim 2013c). Yulaf kepeği yaklaşık olarak %7 β -glukan içerir. Kuru yulaf, arpa ile aynı oranda (%5) β -glukan içerir. Buğday ve çavdar ise %2 β -glukan içerir. β -glukan bira mayasından %80 saflıkta elde edilebilir. Mantardan elde edilen β -glukan en pahalı olanıdır, bunu sırasıyla arpa, yulaf ve mayalardan elde edilen β -glukanlar izler (Anonim 2013b).

Beta-Glukanın Etki Mekanizması: β -glukanlar immun sistemi uyarıcı ve güçlendirici özelliklere sahiptirler. Bu özellikleri; lökositleri aktive etme, fagositik aktiviteyi stimüle etme ve reaktif oksijen araçlarının, inflamatuvar mediatörlerin, TNF- α (tümör nekroz faktör- α) gibi sitokinlerin üretimini uyarma yeteneklerinden kaynaklanır. β -glukanlar doğal bağışıklık sistemi tarafından tanınırlar. Bu tanınma muhtemelen ilgili hücre tiplerine ve β -glukanın bağlandığı reseptörlerle alakalıdır. Bu tanıma konakçı savunmasında önemli rol oynar ve immun yanıtın düzenlenmesinde spesifik fırsatlar sunar. Nötrofiller, makrofajlar ve dentritik hücreler çeşitli şekillerde β -glukanı tanıma yeteneğine sahip birkaç reseptör sunarlar. β -glukan reseptörleri de hücre içi sinyalleri tanıyarak, hücresel yanıtları uyarır ve immun yanıtın düzenlenmesinde rol alır. β -glukanlarda bulunan bu özel reseptörler; complement reseptör 3 (CR3), lactosylceramide, selected scavenger reseptörleri ve dectin-1'dir. Bu reseptörler içerisinde en önemlileri CR3 ve Dectin-1'dir (Akramiye ve ark. 2007; Keser ve Bilal 2008).

Beta-Glukanın Etkileri: Beta-glukanın bilinen birçok faydalı etkisi vardır. İmmun sistemi uyarmak ve güçlendirmek başta olmak üzere, anti-tümör etki, radioprotektif etki, enfeksiyonlara karşı direnç artırıcı etki, adjuvan etki gibi etkileri vardır. Bunun yanı sıra, kan şekeri seviyesini düzenleme, kolesterol seviyesini düşürme, deriyi canlı tutma gibi etkileri de vardır (Pelizon ve ark. 2005; Anonim 2013b). Bu etkiler içerisinde hayvan besleme açısından en önemlileri immun sistemi güçlendirici etki ve antikarsinojenik etkisidir. Bunlara ek olarak β -glukanın hayvanlarda bir de performans üzerine etkileri vardır. Bütün bu olumlu etkiler yanında β -glukanın olumsuz etkileri de yok değildir. Arpa ve yulaf gibi tane yemlerde bulunan β -glukanlar suda çözünebilir özelliktedirler ve kanatlılarda antibesinsel etki gösterirler. Bağırsak viskozitesini artırarak besin maddelerinin difüzyonunu engellerler ve bu nedenle de yapışkan dışkı oluşmasına neden olurlar. Kanatlıların sindirim sisteminde nişasta olmayan polisakkaritleri (NOP) yani β -glukanı sindirebilecek enzimler olmadığı için kanatlı hayvanlar bu maddelerden fazla yararlanamazlar. Bu nedenle kanatlı yemlerinde bu gibi tane yemler kullanılacaksa mutlaka rasyona β -glukan gibi NOP'ı parçalayan enzimlerin (beta-glukanaz) ilave edilmesi gerekir (Karademir ve Karademir 2003).

Beta-Glukanın İmmun Sistem ve Kan Parametreleri Üzerine Etkileri

İmmun sistemde bulunan makrofaj, lenfosit, doğal öldürücü (NK) hücreler, nötrofil, eozinofil, bazofil ve mast hücreleri gibi hücreler patojen mikroorganizmalara karşı

savunmada önemli rol oynarlar. Makrofaj, nötrofil, NK hücreleri ve lenfositlerde bulunan bazı reseptörler β-glukanlarda bulunan özel reseptörlerle etkileşime girerek aktif hale gelirler. Bu reseptörler vasıtasıyla β-glukanlar immun sistemde rol alan bu hücreleri harekete geçirerek, fagositik aktiviteyi ve yangı sonrası sitokin salınımını artırarak immun sistemi uyarıcı etki gösterirler (Akramiene ve ark. 2007; Keser ve Bilal 2008).

β-glukanın spesifik olmayan hücresele immun yanıt ve kan parametreleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Şahan ve Duman 2010), Nil tilapia cinsi balıklarda iki hafta boyunca %0,5 ve %0,1 β-glukan içeren rasyonla beslenen iki deneme grubu ve β-glukan içermeyen bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, %0,1 oranında β-glukan ile beslenen balıklarda Beyaz Kan Hücreleri (WBC) ve fagositik aktivite miktarları, lenfosit ve monosit yüzdelerinin, %0,5 oranındaki β-glukan içeren rasyonla beslenen gruptan ve kontrol grubundan daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca Kırmızı Kan Hücreler (RBC) miktarlarının da deney gruplarında kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Fakat hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), nötrofil, eozinofil yüzdeleri ve hücre büyüklüklerinin gruplar arasında fark olmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda β-glukanın ölümcül enfeksiyonlarda mortaliteyi azalttığı gözlemlenmiştir. Kournikakis ve ark. (2003), yaptıkları bir araştırmada mayadan elde edilen β-1,3 glukanın antraks koruyucu etkilerini ortaya koymuşlardır. Antraks ile enfekte hayvanlarda maya β-glukan uygulamasının hayvanların hayatta kalma oranını artırdığını, akciğerlerde bakteriyel yükü azalttığını ve bakterisiz hayvan sayısını artırdığını bildirmişlerdir.

β-glukanların birçok balık türünde non-spesifik immunitiyi ve enfeksiyonlara karşı direnci artırdığı kanıtlanmıştır. Kumari ve Sahoo (2006), rasyona ilave edilen β-glukanın Asya yayın balıklarında doğal bağışıklık ve hastalık direnci üzerine etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışmada, yemlere ilave edilen %0,1 düzeyinde β-glukanın myeloperoksidaz (MPO) ve lizozim seviyelerini, süperoksit üretimini, hemagglütinasyon titreğini ve *Aeromonas hydrophila*'a karşı savunma seviyesini önemli derecede artırdığını rapor etmişlerdir.

Vetvicka ve ark. (2002), mayadan elde ettikleri β-glukanı antraks enfeksiyonlu farelere ağızdan vererek mortalite oranına etkisi ve yine aynı uygulamanın kanser hücrelerinin büyümesini inhibe edici etkilerini ortaya koymak için yapmış oldukları çalışma sonunda; oral olarak uygulanan β-glukanın antraks koruyucu ve anti-enfektif gösterdiğini bildirmişlerdir.

Cheung ve ark. (2002), farelere oral olarak uygulanan β-glukanın monoklonal antikorların anti-tümör etkisini artırıp artırmayacağını belirlemek üzere yaptıkları çalışma sonucu; oral olarak uygulanmış β-glukanın farelerde yerleşmiş tümörlere karşı monoklonal antikorların anti-tümör etkilerini büyük oranda artırdığını bildirmişlerdir. β-glukanın, antijenleri her zaman etkileyebileceğini ve bu etkinin (1→3),(1→4)-β-D-glukanın moleküler büyüklüğü ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Oral olarak uygulanan (1→3),(1→4)-β-D-glukanların etkileri genellikle daha az belirgin olmasına rağmen monoklonal antikorlarla sinerjik olduklarını ortaya koymuşlardır.

β-glukanın antioksidan etkisinin de olduğu bildirilen Erkol ve ark.(2011)' n ratlarda yaptıkları bir çalışmada, tıkanma sarılığında β-glukanın karaciğer hasarına etkisi

incelenmiştir. Araştırma sonucunda; β-glukanın tıkanma sarılığı olan ratlarda karaciğer hasarını ve oksidatif stresi azalttığını, bunun sıra fagositer ve antioksidan etkiyi artırdığını bildirmişlerdir. Serumda; aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), total ve direkt bilirubin, miyeloperoksidaz (MPO), lipidperoksit (LPO) değerleri ve karaciğer dokusunda malondialdehit (MDA) değerlerinin deneme grubunda kontrole göre düşük olduğunu ve ayrıca yine serumda süperoksit dismutaz (SOD) ve karaciğer dokusunda glutatyon (GSH) değerlerinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde doku hasarının deneme grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu ifade edilmiştir.

Beta-Glukanın Performans Üzerine Etkisi

β-glukanın immun sistem üzerine etkileri, performans üzerine etkilerinden daha fazladır. Fakat yine de performans üzerine dolaylı yünden etkileri görülmektedir.

Keser ve ark. (2012), broylerlerde yaptıkları bir çalışmada, rasyonlara antioksidan ve immun sistem uyarıcı olarak çinko, chitosan oligosakkarit ve/veya β-glukan ilavesinin performans ve bazı kan indekslerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda deneme periyodu boyunca gruplar arasında, performansta [canlı ağırlık (CA); günlük canlı ağırlık artışı (GCAA), günlük yem tüketimi (GYT) ve yemden yararlanma oranı (YYO)] önemli olmayan farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir.

Chae ve ark. (2006), kafes ve yerde olmak üzere iki farklı yetiştiricilikte broyler rasyonlarına ilave edilen β-glukanın büyüme ve immun sistem üzerine etkilerini tespit etmek için iki deneme yürütmüşlerdir. Rasyonlara %0, %0.02 ve %0.04 oranlarında β-glukan ilave edilen 1. Denemede 0-17. günler arasında performansta önemli olmayan etkilerin olduğu, fakat 18-34. günler arasında yerde barındırılan grupta, kafeste barındırılan gruba kıyasla daha yüksek bir canlı ağırlık artışı olduğunu bildirmişlerdir. 2. denemede ise %0 β-glukan +%0 antibiyotik (I), %0.03 β-glukan (II), antibiyotik (III) ve %0.03 β-glukan + antibiyotik (IV) uygulanan gruplar arasında deneme süresince CAA'nda önemli bir etki görülmediği ve YYO'nun β-glukan ilave edilen her iki grupta arttığını bildirmişlerdir.

Zhang ve ark. (2008), broylerlerde yaptıkları bir çalışmada; rasyonlara β-1,3/1,6-glukan ilavelerinin performans ve immünolojik parametreler üzerine düzenleyici etkilerini araştırmışlardır. Her birisinde 40 adet hayvan bulunan 6 gruba sırasıyla 0, 25, 50, 75, 100 ve 125 mg/kg β-glukan içeren yemler uygulanmıştır. Deneme sonunda; maksimum büyüme performansının 50 mg/kg β-glukan ilave edilen yemle beslenen grupta olduğu görülmüştür. CA'taki ve yem tüketimindeki önemli artışın 50 ve 75 mg/kg β-glukan ilave edilen yemlerle beslenen gruplarda olduğu rapor edilmiştir.

Mayadan elde edilen β-glukan ilaveli rasyonla beslenen broylerin büyüme performansını, dalak ve bursa ağırlıklarının değerlendirilmesi amacıyla Rathgeber ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışma sonucunda, maya β-glukanın, broyler piliçlerin büyüme performansında etkili olduğu ifade edilmiştir. Her birinde 38 adet hayvan bulunan 24 tane kafese ayrılan piliçlerde 3 adet deneme yürütülmüştür. İlk 2 deneme broyler piliçlerin üretiminde ve immun yanıtlarında β-glukanın ve antibiyotiğin etkilerini kıyaslamak amacıyla yapılmıştır. 3. deneme ise büyüme ve yemden yararlanmayı belirlemek için yürütülmüştür. Hayvanlara; antibiyotiksiz bazal rasyon, bazal rasyon + virjinamisin ve bazal rasyon + β-glukan

rasyonları uygulanmıştır. Deneme sonucunda, 1. denemede 38. güne kadar kontrol grubunda CA'lar daha düşük iken, deneme gruplarında CA'nı aynı olduğu rapor edilmiştir. 2. denemede 38. gün CA'larının yine bütün gruplarda aynı olduğu bildirilmiştir. 3. denemede ise 38. günde kontrol grubunun virjinamisin grubundakilerden daha düşük olmasa da, β -glukan grubundaki hayvanlardan daha düşük CA'a sahip olduğu belirtilmiştir. YYO'nun 2 ve 3. denemede rasyonlardan etkilenmediği, fakat 1. denemede kontrol grubunun virjinamisin grubundan daha düşük YYO'na sahip olduğu, β -glukanlı grupta ise böyle bir durumun gözlenmediği tespit edilmiştir. Dalak ağırlıklarının deneme grupları arasında farklı olmadığı, bursa ağırlıklarının ise 2 ve 3. denemede bütün gruplarda yaş ile azaldığı, fakat 1. denemede kontrol grubunda azalmadığı bildirilmiştir.

Elrayeh ve Yıldız (2012), yaptıkları bir çalışmada broyler rasyonlarına ilave ettikleri inülin ve β -glukanın; büyüme performansı, serum kolesterol, bağırsak uzunluğu ve immun sistem üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada 1 kontrol ve 3 deneme grubundan oluşan ve her grupta 80 adet toplam 320 adet broyler civciv kullanılmıştır. Her grubu da kendi içerisinde 20 adet civcivden oluşan 4 alt gruba ayırmışlardır. Deneme grupları sırasıyla; %0.7 inülin, %0.014 β -glukan ve %0.7 inülin + %0.014 β -glukandan oluşturulmuştur. Deneme 6 haftada sonlanmıştır. Deneme sonunda, gruplar arasında; yem tüketimi (YT), CAA, YYO ve karkas randımanı ile organ ağırlıkları ve 100 g canlı ağırlığa oranlarının da önemli olmayan farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir. Duodenum uzunluğunun gruplar arasında önemli derecede farklı olduğunu, en uzun sekum ve total bağırsak uzunluğunun inülin grubunda ölçüldüğünü, rasyona inülin + β -glukan ilavesinin serum total kolesterol ve total trigliserit seviyelerinde azalmayla sonuçlandığını belirtmişlerdir. Ayrıca; taşlık ve abdomen çevresindeki yağ dokusu uzaklaştırıldıktan sonra, karkasların abdominal yağ içeriğinde gruplar arasındaki farklılığın önemli olmadığı rapor edilmiştir.

Tang ve ark. (2011), Pekin örneklerinde yaptıkları bir çalışmada rasyona ilave edilen Sophy β -glukanının (*Aureobasidium* mantarından elde edilen β -glukan) büyüme performansı, karkas özellikleri, et kompozisyonu ve immünolojik yanıtlara etkisini araştırmışlardır. Bir tanesi kontrol grubu olmak üzere 3 gruba ayrılan bir günlük yaştaki ördek yavrularından bir gruba %1 β -glukan diğer gruba ise %5 basitrasin çinko uygulamışlardır. Deneme sonucunda; farklı rasyon uygulamasına tabi tutulan grupların, göğüs kası yüzdesi ve bağırsak uzunluğu dışında büyüme performansı ve kesim özelliklerinde de hemen hemen hiç fark göstermediklerini bildirmişlerdir. Göğüs kası yüzdesi ve bağırsak uzunluğunun basitrasin çinko grubunda kontrol ve β -glukan gruplarından rakamsal olarak daha yüksek olduğunu ve yine göğüs kasının kimyasal kompozisyonları, yağ asitleri ve amino asitlerinin rasyondan önemli derecede etkilenmediğini tespit etmişlerdir.

Dritz ve ark. (1995), süttten kesilmiş domuzlarda β -glukanın büyüme performansı, non-spesifik bağışıklık ve *Streptococcus suis* enfeksiyonuna karşı dirence etkisini belirlemek amacıyla 3 deneme yürütmüşlerdir. 1. Denemenin sonucunda süttten kesimden sonra 7. günden 14. güne kadar β -glukan katkılı rasyonla beslenen domuzların daha düşük GYT'ne sahip olduklarını ve önemli olmamasına rağmen GCAA'nın β -glukanla beslenen domuzlarda kontrole göre daha düşük olduğu ancak süttten kesim sonrası 7. günden 35. güne kadar β -glukan içeren rasyonlar veya kontrole beslenen domuzlarda büyüme

performansında fark görülmediği bildirilmiştir. 2. denemede ise büyüme performansında hiç farklılığın gözlemlenmediğini ve 3. denemede ise %0,25 β -glukan içeren rasyonla beslenen domuzlarda GYT ve GCAA'nın arttığını ve süttten kesim sonrası 28. günde kontrole göre daha ağır olduklarını ifade etmişlerdir.

Süttten kesilmiş domuzlarda yapılan başka bir çalışmada Zhou ve ark. (2013), lipopolisakkarit uygulamasından sonra rasyona ilave edilen β -glukanın büyüme performansı, fekal mikrobiyal dökülme ve immünolojik yanıtlara etkilerini değerlendirmek için iki deneme yürütmüşlerdir. 28 günlük β -glukan uygulaması yapılan 1. denemede büyüme performansının deneme boyunca β -glukan ilavesinden etkilenmediğini bildirmişlerdir. Lipopolisakkarit uygulamasını takiben 42 gün β -glukanlı rasyonla besleme yapılan 2. deneme sonucunda da yine büyüme performansının β -glukan ilavesinden etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Wang ve ark.(2008), süttten kesilmiş domuzlarda yaptıkları bir çalışmada rasyona β -1,3/1,6-glukan ilavesinin büyüme performansı, bağışıklık ve endokrin yanıtlara etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda; GCAA ve YYO'nun, 14. günden 28. güne kadar rasyona β -1,3/1,6-glukan ilavesi ile ikinci dereceden bir artış gösterdiğini, bunun yanısıra GYT' de önemli bir etki olmadığını bildirmişlerdir. 50 mg/kg β -1,3/1,6 glukan katkılı rasyonla beslenen deneme grubunun CAA ve GYT 'de sayısal bir artış olup, büyüme hormonunda önemli olmayan bir etki bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada; Eicher ve ark. (2006), yeni doğmuş domuzlarda büyümeyi artırıcı olarak ve süttten kesim sonrası bir endotoksin uygulamasından sonra immun-modülatör olarak maya β -glukanı ve C vitamini ilavesinin etkilerini araştırmışlardır. Denemede; kontrol, β -glukan, C vitamini ve kombinasyon (β -glukan + C vitamini) olmak üzere dört grupta çalışmışlardır. Deneme sonucunda; en yüksek CAA'nın süttten kesim sonrası 15 ve 18. günler arasında kombinasyon grubunda gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Bilal ve ark. (2012), kolesterol ile zenginleştirilmiş bir rasyonla beslenen ratlarda, rasyona β -glukan ilavesinin serum lipitleri ve performans indeksleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada β -glukanın CAA, YT, YYO, serum total kolesterol seviyesi, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-kolesterol) seviyesi, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL- kolesterol) ve trigliserit seviyelerine etkileri incelenmiştir. Deneme sonucunda; CAA, YT, YYO, serum total kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerinin yağlı ve β -glukan ilaveli rasyon ile beslenen grupta önemli derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonunda β -glukan'ın serum HDL-kolesterol ve trigliserit seviyeleri üzerinde etkisi olmadığı ve YT negatif olarak etkilediği ancak; β -glukanın HDL-kolesterol ve trigliserit seviyelerini etkilemeksizin serum LDL-kolesterol ve total kolesterol konsantrasyonlarını etkili bir şekilde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bu nedenle β -glukanın; karaciğerin kolesterol sentez yeteneğini ve atherosklerotik vasküler hastalık riskini azaltabileceğini belirtmişlerdir.

β -glukanın balıklar üzerinde etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Sealey ve ark. 2008), gökkuşağı alabalığının büyüme ve hastalık direncini değiştirmede, farklı miktarlarda β -glukan içeren arpa genotiplerinin gücü değerlendirilmiştir. Deneme sonucunda gökkuşağı alabalıklarının büyüme performansında rasyondaki β -glukanın önemli etkilerinin, beslemenin 3. haftasından sonra gözlemlendiğini fakat 9. haftada etki görülmediğini,

beslemenin 3. haftasından sonra, yüksek β-glukanlı arpa içeren rasyonla beslenen balıkların büyümesinin, kontrol rasyonu ile beslenen balıklarla kıyaslandığında önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir. YYO'nun yüksek β-glukan içeren arpa veya ticari olarak bulunan maya β-glukanlı rasyonla beslenen balık gruplarında, buğday kontrol rasyonu veya düşük β-glukanlı arpa içeren rasyonlarla beslenen balıklara kıyasla önemli derecede yüksek olduğunu, 9. hafta sonunda; deneme grupları arasında büyüme veya YYO' nında önemli olmayan farklılıkların gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Beslemenin 3. haftasından sonra buğday kontrol rasyonu veya yüksek β-glukanlı arpa rasyonu ile beslenen balıkların düşük β-glukanlı arpa rasyonu ile beslenen balıklardan önemli derecede daha yüksek nem içeriğine sahip oldukları bildirilmiştir. Beslemenin 9. haftasından sonra; deneme grupları arasında tüm vücut proteini, yağ, kül ve enerjisinde önemli olmayan farklılıkların gözlemlendiği rapor edilmiştir.

Hiss ve Sauerwein (2003), domuzlarda yaptıkları çalışmanın bir bölümünde; β-glukanın büyüme performansını, üzerine etkilerini araştırmışlardır. 75 adet domuz, 4 haftalık yaşta süten kesildikten sonra 3 farklı gruba ayrılmıştır. 4 hafta boyunca sırasıyla; %0, %0.015, %0.03 β-glukan ilave edilmiş rasyonlar uygulanmıştır. Deneme sonucunda; β-glukan uygulanan domuzların GCAA' larının kontrol grubu ile benzer olduğu, GYT'nin kontrol grubu ile kıyaslandığında %0.03 β-glukanla beslenen grupta arttığı fakat YYO bütün gruplarda aynı olduğunu bildirmişlerdir

SONUÇ

β-glukanın hayvanlar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar bu maddenin, immun sistem üzerinde oldukça olumlu etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Bu etkiyi de sahip olduğu özel reseptörler vasıtasıyla immun sistem hücrelerini aktive ederek, bağışıklığı uyarıcı ve güçlendirici etkisiyle göstermektedir. Böylece enfeksiyonlara karşı savunmada önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda β-glukanın hayvanların sağlığı üzerindeki etkisine bağlı olarak, performans üzerine de dolaylı yoldan etki ettiği ifade edilmektedir. β-glukanın rasyonlara ilave edilmesi ile ilgili olarak, antibiyotiklere alternatif olma noktasında hayvan beslemede performans üzerine yapılacak daha fazla sayıda çalışmayla, daha çok verinin elde edilmesine katkı sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Anonim (2013a).** <http://www.kanatlibilgi.com/uploads/yuklemeler/antimikrobiyal-buyutme.pdf>den. Erişim Tarihi: 26.06.2013.
- Anonim (2013b).** <http://www.youngagain.org/books/betaglucan.pdf>. Erişim Tarihi: 26.06.2013
- Anonim (2013c).** <http://tr.wikipedia.org/wiki/Beta-glukan>. Erişim Tarihi: 26.06.2013.
- Akramienė D, Kondrotas A, Didžiapetrienė J, Kėvelaitis E (2007).** Effects of β-glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)*, 43(8), 597-606.
- Bilal T, Gürsel FE, Ateş A, Keser O (2012).** Effects of dietary β-glucan on serum lipids and performance indices in rats fed a diet enriched with cholesterol. *Pak Vet J*, 32(1), 97-100.
- Chae BJ, Lohakare JD, Moon WK, Lee SL, Park YH, Hahn TW (2006).** Effects of supplementation of β-glucan on the growth performance and immunity in broilers. *Res Vet Sci*, 80, 291-298.
- Cheung NV, Modak S, Vickers A, Knuckles B (2002).** Orally administered β-glucans enhance anti-tumor effects of monoclonal antibodies. *Cancer Immunol Immunotherapy*, 51, 557-564.

- Dritz SS, Shi J, Kielian TL, Goodband RD, Nelssen JL, Tokach MD, Chengappa MM, Smith JE, Blecha F (1995).** Influence of dietary beta-glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. *J Anim Sci*, 73,3341-3350.
- Eicher SD, McKee CA, Carroll JA, Pajor EA (2006).** Supplemental vitamin C and yeast cell wall β-glucan as growth enhancers in newborn pigs and as immunomodulators after an endotoxin challenge after weaning. *J Anim Sci*, 84, 2352-2360.
- Elrayeh AS, Yıldız G (2012).** Effects of inulin and β-glucan supplementation in broiler diets on growth performance, serum cholesterol, intestinal length, and immune system. *Turk J Vet Anim Sci*, 36(4), 388-394.
- Erdoğan Z, Erdoğan S, Aslantaş Ö, Çelik S (2007).** Sinbiyotik ve fitobiyotik katkısının broylerlerde performans, ince bağırsak ağırlığı ve pH'sı, sekal koliform sayısı ve oksidatif metabolizma üzerine etkisi. IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 24-28 Haziran, Bursa.
- Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, Şehu A, Saçaklı P (2011).** Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojisi. Pozitif Matbaa, Ankara.
- Erkol H, Kahramansoy N, Kordon Ö, Büyükaşık O, Serin E, Ulaş N (2011).** Tıkanma sarılığında beta glukanın kalıcı hasarına etkisi. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*,17(4), 303-307.
- Hiss S, Sauerwein H (2003).** Influence of dietary β-glucan on growth performance, lymphocyte proliferation, specific immune response and haptoglobin plasma concentrations in pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 87, 2-11.
- Karademir K, Karademir B (2003).** Yem katkı maddesi olarak kullanılan biyoteknolojik ürünler. *Lalahan Hay Arş Ent Derg*, 43(1), 61-74.
- Keser O, Bilal T, Kutay H C, Abas İ, Eseceli H (2012).** Effects of chitosan oligosaccharide and/or beta-glucan supplementation to diets containing organic zinc on performance and some blood indices in broilers. *Pak Vet J*, 32(1), 15-19.
- Keser O, Bilal T (2008).** Beta-glukanın hayvan beslemede bağışıklık sistemi ve performans üzerine etkisi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 5(2), 107-119.
- Kocaoğlu Güçlü B, Kanber K (2009).** Ruminant beslemede alternatif yem katkı maddelerinin kullanımı: 1. Probiyotik, prebiyotik ve enzim. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 6(1), 65-75.
- Kournikakis B, Mandeville R, Brousseau P, Ostroff G (2003).** Anthrax-protective effects of yeast beta 1,3 glucans. *Med Gen Med*, 5, 1.
- Kumari J, Sahoo P K (2006).** Dietary β-1,3 glucan potentiates innate immunity and disease resistance of Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). *J Fish Dis*, 29, 95-101.
- Pelizon AC, Kaneno R, Soares AMVC, Meira DA, Sartori A (2005).** Immunomodulatory Activities Associated with β-Glucan Derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *Physiol Res*, 54, 557-564.
- Rathgeber BM, Budgell KL, MacIsaac JL, Mirza MA, Doncaster KL (2008).** Growth performance and spleen and bursa weight of broilers fed yeast beta-glucan. *Can J Anim Sci*, 88(3), 469-473.
- Sealey WM, Barrows FT, Hang A, Johansen KA, Overturf K, LaPatra SE, Hardy RW (2008).** Evaluation of the ability of barley genotypes containing different amounts of β-glucan to alter growth and disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Anim Feed Sci Tech*, 141, 115-128.
- Şahan A, Duman S (2010).** Influence of β-1,3/1,6 glucan applications on some non-specific cellular immun response and haematologic parameters of healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* S., 1758). *Turk J Vet Anim Sci*, 34(1), 75-81.
- Tang XY, Gao JS, Yua F, Zhang WX, Shao YJ, Sakurai F, Li ZD (2011).** Effects of Sophy β-glucan on growth performance, carcass traits, meat composition, and immunological responses of Peking ducks. *Poult Sci*, 90, 737-745.
- Vetvicka V, Terayama K, Mandeville R, Brousseau P, Kournikakis B, Ostroff G (2002).** Orally-administered yeast β1,3-glucan prophylactically against anthrax infection and cancer in mice. *JANA*, 5, 1-5.
- Wang Z, Guo Y, Yuan J, Zhang B (2008).** Effect of dietary β-1,3/1,6-glucan supplementation on growth performance, immun response and plasma prostaglandin E2, growth hormone and ghrelin in weanling piglets. *Asian-Aust J Anim Sci*, 21(5), 707-714.
- Zhang B, Guo Y, Wang Z (2008).** The modulating effect of β-1,3/1,6-glucan supplementation in the diet on performance and immunological responses of broiler chicken. *Asian-Aust J Anim Sci*, 21(2), 237-244.
- Zhou TX, Jung JH, Zhang ZF, Kim IH (2013).** Effect of dietary β-glucan on growth performance, fecal microbial shedding and immunological responses after lipopolysaccharide challenge in weaned pigs. *Anim Feed Sci Tech*, 179, 85- 92.



Protective Mechanisms in Digestive Tract

Sema USLU Mecit YORUK

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology, Van, Turkey

Received: 21.04.2014

Accepted: 29.05.2014

SUMMARY

The digestive tract, the mouth is a channel starting and ending at the anus. The digestive system is linked directly with the external environment. Therefore, lifetime of various antigens, viruses, bacteria, fungi, parasites and very often encounters with many pathogens. These factors immunological protection of the digestive tract (specific protection mechanisms) and non-immunologic (non-specific protection mechanisms) are provided by the barrier formed by the protection mechanisms. The purpose of this review, the disease very close to the digestive tract is to draw attention to the importance of the protection mechanisms.

Key Words: *Digestive tract, Protective Mechanisms*

ÖZET

Sindirim Kanalında Bulunan Koruyucu Mekanizmalar

Sindirim kanalı ağızla başlayıp anüsle biten bir kanaldan oluşmuştur. Sindirim sistemi dış ortamla direkt bağlantılıdır. Bu sebeple ömür boyu çeşitli antijenler, virüsler, bakteriler, mantarlar, parazitler ve bir çok patojen ile çok sık olarak karşılaşır. Bu etkenlerden sindirim kanalının korunması immunolojik (özel koruma mekanizmaları) ve non-immunolojik (özel olmayan koruma mekanizmaları) koruma mekanizmaları tarafından oluşan bariyer tarafından sağlanmaktadır. Bu derlemenin amacı, hastalık etkenlerine oldukça yakın olan sindirim kanalındaki koruma mekanizmalarının önemine dikkat çekmektir.

Anahtar Kelimeler: *Sindirim kanalı, Koruyucu mekanizmalar*

GİRİŞ

Sindirim sistemi dış ortamla direkt bağlantılı olması sebebiyle çok sayıda yabancı maddeyle her an karşı karşıyadır. Çoğu antijen nitelikte olan bu yabancı maddelerin büyük bir bölümü Tunika mukoza'da bulunan savunma mekanizmaları tarafından etkisiz hale getirilir. Sindirim kanalında bazı yapısal özellikler vardır. Ortasında değişen çaplarda bir lumen bulunur (Junquiera ve ark. 1988). Lumenin etrafı dört ana katmanla çevrilidir (Gülmez 2008).

Tunika mukoza; Lamina epitelyalis, Lamina propria ve Lamina muskularis'den oluşur. Tunika submukoza gevşek bağ dokulu kısımdır. Tunika muskularis iki kas katmanından oluşmuştur. Çoğunlukla bu kaslardan içteki sirküler, dıştaki longitudinal seyir gösterir. Tunika seroza ise ince, gevşek bir bağ dokusu ve mezotel hücreleriyle döşelidir (Junquiera ve ark. 1988; Gülmez 2008).

Bu katmanlarda bulunan çeşitli unsurlar organizmayı ve sindirim sistemini bakteriyel, viral, paraziter, hastalık etkenlerinden korurken mekanik ve kimyasal etkilerden de korurlar (Junquiera ve ark. 1988).

Sindirim kanalını döşeyen epitelin ilk görevi içerik için bir bariyer oluşturmak, içeriğin taşınmasına yardımcı olmak ve emilimi sağlamaktır. Bu tabakadaki hücreler

kayganlaştırıcı ve koruyucu mukusu üretirler. Lamina propria ve submukozada da çok sayıda lenf folikülü ve lenfosit infiltrasyonu ile makrofajlar bulunur. Bunun sebebi de epitelin ince, zedelenebilir özellikte olmasındandır. Muskuler katman ise mukozanın hareketlerini sağlamaktadır (Junquiera ve ark. 1988).

GENEL BİLGİLER

Koruma Mekanizmaları

Sindirim kanalı mukozası yaşam boyunca sürekli olarak virüsler, bakteriler, mantarlar, parazitler gibi çok çeşitli antijenler ile karşı karşıyadır (Theodorou ve ark. 1996). Bu maddelerin organizma içine girmemeleri özellikle Tunika mukoza'da bulunan özel olan koruma mekanizmaları (immunolojik mekanizmalar) ve özel olmayan (non-immunolojik) koruma mekanizmaları tarafından oluşturulan bariyerler tarafından sağlanır (Theodorou ve ark. 1996; Tanyolaç 1999). Bu mekanizmalar organlara göre yüzey mukusu, sindirim salgıları, peristaltik hareketler, epitel örtüsü ve bağırsak ilişkili lenfoid doku (Gut - associated lymphoid tissue - GALT)'ya ait hücreler gibi mekanizmalardan oluşur. Lokal olarak şekillenen immunglobulinler özel koruma mekanizmasını oluştururlar. Yüzey mukusu, sindirim salgıları ve epitel örtüsü gibi yapılar da özel olmayan koruma

mekanizmasının bir bölümünü oluştururlar (Tanyolaç 1999; Yörük 2008).

Özel olmayan (non-immunolojik) koruma mekanizmaları da kendi arasında; pre-epitelyal mekanizmalar, epitelyal mekanizmalar ve post-epitelyal mekanizmalar olmak üzere 3 temel kategoriye ayrılırlar (Guha ve Kaunitz 2002). Pre-epitelyal mekanizmaları yüzey mukusu, midedeki asit ve pepsinogen salgısı üreten bezler, gastrin hormonu ve sekretin hormonu oluşturur (Banks 1986; Guha ve Kaunitz 2002).

Yüzey mukusu (müsin) sindirim kanalındaki çeşitli organların müköz karakterdeki bez hücrelerinden salgılanan sekrettir (Banks 1986; Guyton 1986). Başlıca su, elektrolit ve birkaç glikoprotein müsinin bileşimini oluşturan maddelerdir (Guyton 1986). Sindirim kanalına ilk olarak giren yabancı madde tüm yüzeyi film şeklinde kaplayan mukus ile karşılaşır. Birçok mikroorganizma yüzey mukusu içerisinde hareket edemeyerek epitelyal bariyere ulaşamaz (Diker 1998). Sindirim kanalındaki müköz bezler tek hücreli veya tubulo-alveoler yapıda bulunabilirler (Guyton 1986; Sağlam 1997). Müsin gastrointestinal kanalın farklı bölümlerinde farklı kimyasal özellikler gösterebilir (Guyton 1986).

Müsinin özellikleri şu şekilde sıralanabilir: Yapışkan olmasından dolayı besinlere ve diğer partiküllere sıkıca yapışır. Bağırsak çeperini kaplar ve mukozanın besinlerle direkt temasını önler. Müsin sayesinde besinler epitel boyunca kolaylıkla geçebilirler böylece epitel korunmuş olur. Feçesin dışarıya atılabilmesine yardımcı olur. Müsinin bir diğer özelliği de az miktarda asit ya da alkaliyi nötralize edebilmesidir (Guyton 1986).

Tablo 1. Sindirim sisteminin genel koruma mekanizmaları

Table 1. General protection mechanisms of the digestive system

Non spesifik Koruma Mekanizmaları	
1-Kimyasal Faktörler	Lizozomlar, Yağ asitleri, pH limitleri, Mide asidi ve Pepsin, İnterferon, Safranın asitleri, Komplemant sistemi
2-Fiziksel Faktörler	Bağırsak hareketleri, Mukusun bariyer etkisi, Glikokaliks
3-Fizyolojik Faktörler	Kusma, İshal, Sıvı akışları
4-Biyolojik Faktörler	Mikroflora etkisi, Mikroekolojik denge
Spesifik Koruma Mekanizmaları	
1-Hücresel Faktörler	Mast hücreleri, M-hücreleri, Paneth Hücreleri, Sindirim kanalındaki lenfositler, GALT (Peyer plakları, Tonsiller, İEL, Mezenterik lenf yumruları)
2-Humoral Faktörler	Immunglobulin A, E, G, M

Bağırsak peristaltığı ince bağırsaklardaki mikroorganizma sayısını azaltan önemli faktörlerden biridir. Safranın tuzları da bazı bağırsak patojenlerini inaktive edebilirler. Normal olarak sindirim kanalında bulunan mikroflora da çeşitli inhibitör maddeler salgılayarak patojenler üzerine toksik etki üretebilirler (Diker 1998). İnce bağırsaklardaki epitel katmanının içerdiği Kadeh hücreleri'nin salgısı olan mukus, bağırsakların başlangıç kısımlarında bağırsağı korurken, kalın bağırsaklarda koruma ve kayganlaştırıcı görev üstlenir. Lamina propria'da ve submukoza'da ise immunolojik özelliklere sahip birçok hücre, bez ve yapı bulunmaktadır. Bu bölgede bulunan bazı enteroendokrin hücrelerin salgılarının lizozim içeriği, antibakteriyel içeriğe sahiptir. Lizozim enzimi özellikle bağırsakta ve tükürükte bulunurlar. Laktoperoksidaz, hidrojen peroksit, tiyosiyanat gibi enzimler de bağırsak ve tükürük salgısında bulunan patojenler üzerine etkili olan enzimlerdir. Böylece bağırsak florasının korunmasında rol oynarlar. Bağırsak villuslarındaki epitel hücrelerinin yaşam sürelerinin kısa olduğundan bağırsak epitelinin sürekli korunması sağlanır.

Bikarbonat, çeşitli bezlerden ve organlardan salgılanan sekretlerin bileşimine katılan bir maddedir. Alkali pH'ya sahip olması sebebiyle bulunduğu bölgedeki asidik pH'yı alkalileştirme veya nötrleştirme özelliğine sahiptir. Bu özelliği aracılığı ile asidik içerikli salgılardan kaynaklanabilecek zararlar minimum düzeye indirgenir (Guyton 1986; Bölükbaşı 1989). Bikarbonat salgısı; tükürük bezlerinden salgılanan tükürüğün bileşimine, pankreastan salgılanan salgının bileşimine, safra kesesindeki safranın bileşimine ve bağırsaklardan salgılanan salgının bileşimine de katılır. Buradan anlaşıldığı gibi sindirim kanalındaki tüm organların bulundurduğu içeriğin bileşiminde bikarbonat anyonu bulunmaktadır (Bölükbaşı 1989).

Epitelyal koruma mekanizmaları da sindirim kanalında bulunan organların Tunika mukoza'larındaki Lamina epitelyalis ve mukozal permeabilite tarafından oluşturulur (Guha ve Kaunitz 2002). Tüm sindirim kanalının müköz membranları epitel doku ile kaplıdır. Bazı patojenlerin epitel doku üzerindeki reseptörlere bağlanması enterik enfeksiyonların başlamasında korunmanın ilk basamağı olmaktadır. Epitel bariyeri oluşturan en önemli mekanizma hücresel yenilenmedir (Diker 1998). Sindirim kanalında bulunan organların üst yüzeylerini çok katlı yassı keratinize epitel veya tek katlı prizmatik epitel kaplar (Gülmez 2008). Dilin üst yüzeyinde mekanik etkileri en aza indirmek için çok katlı yassı keratinize özellikte epitel bulunur. Özofagusta ise keratin katmanı bazı hayvan türlerinde bulunur (Junquiera ve ark. 1988; Tanyolaç 1999). Mukozal permeabilitede epitel hücrelerinin seçicilik ve absorpsiyon özellikleri rol oynar (Bölükbaşı 1989).

Lamina propria'da ve submukoza'da bulunan birçok lenf folikülü de sindirim kanalında koruyucu özelliklere sahiptir. Bunlardan biri İleum'daki Peyer plakları'dır. Burada bulunan lenfosit, makrofaj, plazma hücreleri, enteroendokrin hücreler, İntra Epitelyal Lenfositler (İEL) gibi hücreler immunolojik yanıtı başlatırlar ve sindirim kanalında koruyucu bariyer oluştururlar. Submukoza ve Lamina propria'daki birçok bez mide içeriğinin alkalileştirilmesinde ve asit ortamın mukozaya verebileceği zararın önlenmesinde görevlidir. Kalın bağırsaklarda ise ayırıcı olan Tenia seki ve Tenia koli adı verilen katlanmalar kalın bağırsaklara elastikiyet ve genişleyebilme özelliklerini katar ve anatomik bir koruyucu özellik kazandırır. Kadeh hücreleri'nin fazla miktarda bulunması da daha fazla olarak kayganlaşmayı artırır (Guyton 1986; Dursun 2006; Yörük 2008).

Özel koruma mekanizmaları hücresel ve humoral koruma mekanizmaları olarak da gruplanabilmektedir. Hücresel koruma faktörleri; mast hücreleri, makrofajlar, M

hücreleri, Paneth hücreleri, sindirim kanalı boyunca bulunan lenfositler, GALT'ı oluşturan Peyer plakları ve mezenterik lenf yumruları olarak ayrılabilir. Humoral faktörler de Immunglobulin A, E, G ve M'dir. Sonuç olarak bunları şu şekilde tabloşturmak mümkündür (Dönmez ve Çelik 1994).

Sindirim Kanalındaki Organların İncelenmesi

Ağız boşluğu: Ağız boşluğu mekanik etkinin fazla olduğu yerlerde keratinleşmiş çok katlı yassı epitele sahiptir (Banks 1986; Junquiera ve ark. 1988). Dudaklarda keratinleşmemiş epitelden keratinleşmiş epitele geçiş gözlenir. Lamina propria ve submukozada küçük tükrük bezleri vardır (Junquiera ve ark. 1988). Ağızın tavanı ise sert ve yumuşak damaktan meydana gelir.

Kutan ve glanduler mukoza ile kaplı olan sert ve yumuşak damak ile dudaklar farklı koruyucu özelliklere sahiptir. Sert damak kutan mukozanın özelliği olan çok katlı ve keratinli yapısı ile mekanik etkilere karşı daha dayanıklı yapıdadır. Yumuşak damak ise glanduler özellikteki mukozasından salgılanan seröz ve müköz salgılarla ağıza alınan gıdaların hareketini kolaylaştırmaktadır. Sindirim sistemine dahil olan birçok tükrük bezi de salgısını ağız boşluğuna akıtarak ağız mukozasının nemli kalmasını, gıdaların kolay parçalanmasını, gıdaların hareketinin kolay olmasını sağlamaktadır (Junquiera ve ark. 1988; Bölükbaşı 1989). Epitelin kalınlığı ve permeabilite özelliği birçok etki ile değişmektedir. Diş macunu, deterjan vb. kimyasallar ağız mukozasının permeabilitesini arttırmaktadır (Squier 1991). Ağız boşluğuna açılan tükrük bezlerinin de ağız boşluğunu koruyucu etkisi bulunmaktadır (Bykov 1997).

Alkol ve tütün kullanımı gibi faktörler vücuttaki tüm koruyucu mekanizmaları etkilediği gibi ağız mukozasının özellikle de epitelyal bariyerin koruyucu özelliğini azaltmaktadır (Squier 1991).

Tonsiller sindirim kanalına gelen besinlerin ilk karşılaştıkları lenfoid dokudur (Yörük 2008). Tonsiller ağız boşluğunda koruyucu özelliğe sahip oluşumlardır. Yerleşim yerine göre palatin, faringeal ve lingual tonsiller olarak adlandırılırlar. Palatin tonsiller farinksin yan duvarlarına yerleşmiş sağlam solları yapıdadır. Çok katlı yassı epitelin altında germinal merkezler içeren yoğun lenfoid doku bulunur, derin kriptalara sahiptir. Faringeal tonsiller farinksin arka bölümünde tek bir yapıdır. Yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Mukoza pilillerinden oluşan bir yapıda diffuz lenfoid alanlardır. Lingual tonsillerde dilin tabanında bulunur (Junquiera ve ark. 1988).

Dil: Dil ana yapısı iskelet kaslarından oluşan bir organdır (Banks 1986; Junquiera ve ark. 1988; Tanyolaç 1999). Dilin üst yüzeyi çok kalın ve keratinize bir epitel ile kaplıdır, dilin alt yüzü mekanik etkilerin azlığından dolayı daha ince bir epitel ile kaplıdır (Banks 1986; Junquiera ve ark. 1988). Lamina propria'da ve submukoza'da seröz ve müköz nitelikte salgı yapan bezler, lenfosit infiltrasyon alanları ve birbirleriyle farklı yönlerde seyreden kaslar bulunur (Junquiera ve ark. 1988; Tanyolaç 1999). Dilin üst yüzeyi ve alt yüzeyi farklı histolojik özelliklere sahiptir. Dilde üst yüzeyde epitel çok katlı yassı keratinize niteliktedir. Dilin ventralinde mekanik etkilerin azlığından dolayı daha incedir ve non keratinizedir. Keratin doku katmanı mekanik etkilere karşı oldukça dayanıklıdır (Dellmann 1993; Gülmez 2008).

Dilin üst yüzeyinde Lamina epitelyalis ve Lamina propria'nın birlikte oluşturduğu papilla adı verilen hayvan türlerine göre farklı özelliklerde olan yapılar vardır, bu yapılar da anatomik yapıları gereği doğal koruma görevine sahiptirler (Banks 1986; Junquiera ve ark. 1988). Papilla

filiformis, Papilla fungiformis, Papilla foliata, Papilla sirkumvallata bunlardan bazılarıdır. Bazıları keratinize özellik gösterirken bazıları non-keratinize özellik gösterir. Bu papillalar yeme esnasında gıdaların ağız içinde kalmasını da sağlarlar (Banks 1986; Junquiera ve ark. 1988).

Dişler: Dişler vücudun en sert oluşumlarıdır (Tanyolaç 1999). Evcil ve vahşi hayvanların koruma ve savunmada en sık kullandıkları silah dişleridir (Dellmann 1993). Ağıza alına besinler sindirim kanalına geçmeden önce dişlerle parçalanarak çiğneme işlemine tabi tutulurlar. Besinlerin çok küçük partiküller halinde ezilmesi gastrointestinal kanalın yüzeyini sıyrılmaktan, zedelenmekten korur ve içeriğin bağırsaklara geçişini kolaylaştırır (Guyton 1986).

Yutak: Sindirim ve solunum yollarının kesiştiği bölgedir (Tanyolaç 1999). Farenksin orofarenks ve nazofarenks kısımları farklı histolojik yapıları dolayısıyla farklı koruyucu mekanizmalara sahiptirler. Orofarenks kutan mukozası ise çok katlı yassı keratinize epitel ile kaplıdır ve yapısındaki keratin katmanı mekanik etkilere karşı dayanıklıdır. Nazofarenks ise yalancı çok katlı prizmatik epitel ile kaplıdır. Yalancı çok katlı prizmatik epitel yapısındaki Kadeh hücreleri'nin salgıladığı münin ile koruma özelliğine sahiptir. Submukozada ise müköz bezler ve lenf folikülleri vardır (Guyton 1986; Junquiera 1988; Dellmann 1993).

Yemek borusu: Gastrointestinal kanalın bu parçası boru şeklindedir ve yiyecekleri ağızdan mideye taşımakla görevlidir. İnsan, karnivorlar ve domuzda keratinleşmemiş epitel ile kaplıdır (Junquiera 1988; Yörük 2008). İnce duvarlı olup esneme yeteneği oldukça fazladır (Hodges 1974; Tanyolaç 1999; Karadağ ve Nur 2002).

Özofagus sindirim sistemindeki tipik tubuler bir organdır (Dellmann 1989). Tunika mukoza'daki Lamina epitelyalis çoğu hayvan türünde çok katlı keratinize özelliktedir. Sert gıdalarla beslenen hayvanlarda bu keratin katmanı mekanik etkilerin artması sebebiyle daha kalın olarak görülmektedir (Dellman 1989; Yörük 2008). Lamina propria ve submukozada sık lenfoid doku alanları bulunmaktadır (Yörük 2008). Submukozadaki seröz ve müköz bezlerin salgıları ile organ kayganlığı sağlanmakta ve besin maddeleri kolay bir şekilde mideye ulaşmaktadır (Guyton 1986; Junquiera ve ark. 1988). Organın en dışındaki Tunika muskularis katmanı ise organa esneyebilme özelliği verir (Guyton 1986; Junquiera ve ark. 1988; Bölükbaşı 1989).

Mide: Sindirim sisteminin en büyük parçasıdır (Dellmann 1983). Mide katmanları tek tek incelendiğinde ilk katman Tunika mukoza katmanlarından olan Lamia epitelyalis'tir. Mide mukozası Lamina propria içerisine uzanan çukurcuklar içerir, uzunlukları farklı olabilen bu çukurcuklara Foveola gastrika adı verilir. Foveola gastrika'ların yüzeyini örten epitel hücreleri, glikozaminoglikan türünde mukus salgılayarak Gl. gastrika'ların asidik etkilerinden ve mide salgısının kuvvetli etkilerinden mide mukozasını korurlar. Lamina propria'daki bezlerin salgıları da sindirim kanalını koruyucu niteliklere sahiptir. Lamina propria midenin farklı bölümlerinde farklı bezlere sahiptir. Midenin kardias kısmındaki bezler tek tip hücre içerirler. Esas olarak bu hücreler mukus salgırlar. Fundus bölgesindeki bezler içerdikleri dört tip hücre ile dört tip salgı üretirler. Kollum hücreleri; foveola epiteli hücrelerinden daha yüksek asitlik derecesine sahip müköz salgı üretirler. Bu müköz salgı yüzey gerilimi azaltıcı etkiye sahiptir (Guyton 1986; Yörük 2008). Kollum hücreleri yüzey epitelinin yenilenmesinde de görev sahtirler. Bu da mekanik etkilere karşı bir tür

rezerv oluşturur. Fundus bezindeki diğer bir hücre de prensipal hücrelerdir. Prensipal hücreler; süt emme döneminde renin, daha sonra ise pepsinojen (pepsin) salgırlar. Farklı dönemlerde farklı salgı üretbilmeleri koruyucu bir nitelik kazandırmaktadır. Fundus bezindeki diğer bir hücre de HCl, KCl ve intrinsik faktör salgılayan pariyetal hücrelerdir. Dördüncü tip hücre de serotonin, gastrin, somatostatin, enteroglukagon gibi sindirim düzenleyici hormonlar salgılayan enteroendokrin hücrelerdir (Diker 1998; Yörük 2008). Mideye giren mikroorganizmalar mide asitliği (pH: 3-4) sayesinde ve bunun mikrobisidal etkisi sayesinde patojenlerin bağırsağa ulaşmasında engeldir. Düşük pH'da artan proteolitik enzimler de burada etkilidir (Diker 1998). Pilon bölgesinde ise müköz karakterde alkali özellik gösteren hücreler, gastrin hormonu salgılayan G hücreleri az sayıda da pariyetal hücreler bulunur. Gastrin pariyetal hücrelerden asit salgısını uyarır. Tüm bu salgılar mide içeriğinin bileşimine katılarak içeriğin mukoza katmanlarını korumasında görev alırlar. Ayrıca Lamina propria'da lenfositler, makrofajlar, plazma hücreleri, lenf folikülleri gibi immünolojik özelliklere sahip yapılar da bulunur. Mide bezlerinin dip kısımlarında Lamina subglandularis adı verilen, etçillerde kemik gibi sert cisimlerin mide mukozasının zedelenmesini önleyen bir katman daha bulunur. Dış katmanlardan olan Tunika muskularis ise oldukça kalın, üç katmanlı, düz kas telleri içerir (Diker 1998; Yörük 2008).

Kutan mukoza ve glandular mukozayı bir arada içeren bileşik midelerde koruyucu mekanizmalar farklı genel özelliklere sahiptir. Rumen, retikulum, omazum bileşik midelerden kutan mukozaya sahip mide bölümleridir. Kutan mukozalar; çok katlı yassı, keratinize epitel bulundurlar. Bu keratinize katman mukozayı koruyucu özelliğe sahiptir. Rumen, retikulum ve omazumda bulunan Papilla ruminis, Krista retikularis ve Lamina omazi gibi yapıların da mekanik olarak gıdaların parçalanmasında önemli rollere sahiptir. Bu yapılarda söz konusu organların korunma sistemlerinin birer parçasıdır. Submukoza, Lamina propria, Tunika muskularis, Tunika seroza, birkaç özellikle birbirinde ayrılmakla birlikte hemen hemen aynı koruyucu niteliklerdedir (Guyton 1986; Tanyolaç 1999; Yörük 2008).

Bağırsaklar

İnce bağırsaklar: Duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölümdür. İnce bağırsaklar histolojik yapısında villüs intestinalis adı verilen 0,5-1,5 mm uzunluğunda mukoza çıkıntılı bulundurur. Bu yapıların arasında Lieberkühn bezleri ya da kriptlerinin açıldığı delikler bulunur. İnce bağırsaklarda villüsler ve kriptler prizmatik epitel hücreleri, Kadeh hücreleri, enteroendokrin hücreler ve Paneth hücreleri olmak üzere dört hücre grubundan oluşur; prizmatik epitel hücreleri, Kadeh hücreleri, enteroendokrin hücreler, Paneth hücreleri. Hücresel savunma sisteminde Paneth hücreleri, M hücreleri, mast hücreleri, sindirim kanalı lenfositleri ve makrofajlar etkilidir. Paneth hücreleri içerdikleri lizozim enzimi ile bazı bakterilerde antibakteriyel etki sağlayarak bağırsağın normal florasının düzenlenmesinde görev alırlar. M hücreleri de bağırsaklarda immün yanıtın başlatılmasını sağlayan hücrelerdir (Dönmez ve Çelik 1994; Yörük 2008). Lamina propria ve submukoza içerisinde bol miktarda diffuz ya da nodüler lenfoid doku bulunur. Bu lenfoid dokuya Peyer plakları adı verilir. Peyer plaklarında makrofajlar, T ve B lenfositleri vardır (Junquera ve ark. 1988). Tunika muskularis'te dışta longitudinal içte de sirküler seyirli düz kas iplikleri bulunur. Bağırsakları en

dıştan, gevşek bağdokudan oluşan Tunika seroza katmanı sarar (Hodges 1974; Karadağ ve Nur 2002; Yörük 2008).

Kalın bağırsaklar: Memelilerin kalın bağırsaklarında villüs yapısı bulunmaz. Kalın bağırsakların başlıca fonksiyonu su emilimi, dışkı oluşturulması ve mukus üretimidir. Çok sayıda goblet hücresi, absorbtif hücre ve az sayıda enteroendokrin hücre bulunur. Lamina propria'da bol miktarda lenfoid doku bulunur. Bu lenfoid doku submukozaya kadar uzanır. Tunika muskularis longitudinal ve sirküler seyir gösteren kaslardan oluşur (Yörük 2008).

Sekum: Lenf doku en yaygın olarak bağırsak kanalının bu bölgesinde bulunur. Basis seki'de Tonsilla sekalis yer almaktadır (Dellmann 1993; Karadağ ve Nur 2002). Submukoza çok dar olup kan damarı ve sinir telleri içermektedir. Bu katmanda lenf folikülleri ve lenfosit infiltrasyon alanlarına da rastlanır. Tunika muskularis içteki sirküler katmanı dışa bulunan longitudinal katmandan beş-altı kat daha kalındır ve iki kas katmanı arasında iyi gelişmiş sinir pleksüsleri bulunmaktadır. Kalın bağırsakları en dıştan peritoneal epitel ve gevşek bağdokudan oluşan ince tunika seroza katmanı sarar (Hodges 1974; Karadağ ve Nur 2002; Karaca 2003).

Kolon: Histolojik yapısı ince bağırsaklara benzer fakat daha kalındır. Kriptler belirginleşmiştir. Epitel katmanını oluşturan hücrelerin büyük bir kısmı Kadeh hücreleri'dir. Kadeh hücreleri'nin fazlalığı ile dışkıının atılımı kolaylaşmakta ve koruyucu bir bariyer şekillenmektedir (Yörük 2008). Lamina propria ve submukozada diffuz lenfoid doku bulunur (Karadağ ve Nur 2002).

Vücuttaki lenfoid dokunun çoğunluğu bağırsaklarda bulunur. Aynı zamanda bağırsak, yabancı antijenlerin vücuda en önemli giriş yoludur. Bağırsak yoluyla vücudun temasta olduğu antijenler arasında gıdasal proteinler, bağırsak florası ve bazı patojenler sayılabilir (Diker 1998).

Bağırsaktaki gıda antijenlerinin miktarı hayvanın yaşı, gıdanın türü gibi faktörlerle etkilenebilmektedir. IgA bu gibi antijenlere karşı salgılanmaktadır. IgA tüm mukozalarda en çok bulunan immunglobulindir. IgA salgısı arttıkça immün yanıtın şekillenmesi hızlanmakta ve patojenin emilimi de azalmaktadır. IgA bağırsak submukozasındaki plazma hücreleri tarafından sentezlenir ve salgılanır. Daha sonra diğer müköz membranlara geçerek antikor sentezlemeye devam ederler. IgE ise, patojenler IgA engelini aşarak mukozaya geçtiklerinde ilk olarak karşılaştıkları immunglobulin türüdür. Mukozal lenfoid dokularda üretilen IgE'nin çoğu, çeşitli yerlerdeki mast hücrelerinin yüzeyine bağlanarak immün eliminasyonda görev alır. En çok paraziter enfestasyonlarda etkili olabilir. Kısaca IgA ve IgE, mukozal yüzeylerin savunmasında sırayla çalışırlar. IgG, kolostrum ve süte yüksek konsantrasyonda bulunarak mukozal yüzeylere pasif olarak geçer. Kadeh hücreleri de mukus salgısını arttırarak, IgG ile birlikte doğal bağışıklığa katkıda bulunurlar. IgM, bağırsaktaki mukozal lenfoid dokuda sentez edilerek epitel vasıtasıyla lumene taşınır. IgM erişkinlerde mukozal yüzeylerde çok etkili değildir. Yeni doğanlarda ise en önemli immunglobulin sınıfıdır. Yeni doğanlarda bağırsaktaki enzim aktivitesi düşük olduğundan IgM'nin yapısı bozulmadan fonksiyonu uzun süre sürebilmektedir (Diker 1998). Sonuç olarak; sindirim kanalında bulunan bu yapıların çeşitli patojenler karşısındaki önemli görevleri üzerine yapılacak araştırmalarda bu derlemenin faydalı olacağı ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Banks WJ (1986)**. Applied Veterinary Histology. 2. Baskı, Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Bölükbaşı MF (1989)**. Fizyoloji Ders Kitabı. AÜ Vet Fak Yayınları Ders Kitabı 413. Cilt: 1
- Bykov VL (1997)**. The Functional Morphology of The Epithelial Barrier of The Oral Mucosa. *Stomatologia (Mosk)* 76 (3), 12-17.
- Dellmann HD (1993)**. Textbook of Veterinary Histology. 4. Baskı, Lea&Febiger Philadelphia.
- Diker S (1998)**. İmmunoloji. Medisan Yayınevi Ankara.
- Dönmez HH, Çelik İ (1994)**. Sindirim Kanalındaki Lokal Savunma Sisteminin Hücrel Faktörleri. *Hayvancılık Arş Derg*, 4, 1, 57-61.
- Dursun N (2006)**. Veteriner Anatomi II. Medisan Yayınevi Ankara.
- Guha S, Kaunitz JD (2002)**. Gastroduodenal Mucosal Defense, An Integrated Protective Response, Stomach and Duodenum. *Curr Opin Gastroen* 18 (6), 650-657.
- Guyton AC (1986)**. Textbook of Medical Physiology. 7. Baskı. WB Saunders Company, Nobel Tıp Kitabevi İstanbul
- Gülmez N (2008)**. Sindirim sistemi I: Ağız Boşluğu. Veteriner Özel Histoloji. Ed: A. Özer. 1. Baskı. Nobel Yayın Dağıtım AŞ Ankara.
- Hodges RD (1974)**. The Histology of the Fowl. Academic Pres London, New York, San Francisco.
- Junquiera LC, Carneiro J, Robert O, Kelley R (1988)**. Basic Histology. 8. Baskı. New York.
- Karadağ H, Nur İH (2002)**. Sindirim Sistemi, Evcil Kuşların Anatomisi. Ed: N. Dursun, pp. 53-90, Medisan Yayınevi Ankara.
- Karaca T (2003)**. Tavuk ve Bildiricilerde Sindirim Sisteminde Bulunan Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi. Doktora tezi. YÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Van.
- Sağlam M (1997)**. Genel Histoloji. Genişletilmiş 5. Baskı. Yorum Matbaacılık Sanayii, Ankara.
- Squier CA (1991)**. The Permeability of Oral Mucosa. *Crit Rev Oral Biol M*, 2 (1), 13-32.
- Tanyolaç A (1999)**. Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd Ankara.
- Theodorou V, Fioramonti J, Bueno L (1996)**. Integrative Neuroimmunology of The Digestive Tract. *Vet Res* 27 (4-5), 427-442.
- Yörük M (2008)**. Sindirim Sistemi II: Sindirim Kanalı. Veteriner Özel Histoloji. Ed: A. Özer. 1. Baskı. Nobel Yayın Dağıtım AŞ Ankara.



VAN VETERINARY JOURNAL



ERRATUM

Yesilmen S, Arserim NB, Isik N, Icen H (2012). Determination of Prevalence of Pathogenic *Leptospira* spp. by Real-Time PCR in Cattle in Diyarbakır. *YYU Vet Fak Derg*, 23(3), 137-139.

Article first published online 15 December 2012

The authors wish to make the following changes to their article

Introduction section page 1 column 1:

"*Lilenbaum et al. 2003*" should change as: "**Lilenbaum and Souza 2003**"

Discussion and Conclusion section page 2 column 2:

On first paragraph: "*Levvat 2005*"; should change as: "**Levvat et al., 2005**"

On second paragraph: "*Ozdemir 1994*" should remove

On third paragraph: "*Guitan et al. 2001*" should remove

On third paragraph: "*Sahin et al. 2000*"; should change as: "**Sahin et al., 2002**"

On last paragraph: "*31*" should change as: "**Benschop et al., 2009**"

References section page 3 column 1:

This literature should add:

Benschop J, Heuer C, Jaros P, Collins-Emerson J, Midwinter A, Wilson P (2009). Seroprevalence of leptospirosis in workers at a New Zealand slaughterhouse. *NZ Med J* 122(1307), 39-47.

The authors sincerely apologize for these errors

Prof. Dr. Nihat MERT

Editor in chief