

Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi, Enstitünün bilimsel yayın organı olup, yılda bir kez yayınlanır. Derginin kısaltılmış adı Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.'dir.

The Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute is the scientific publication of the institute, which is published once a year. The designation of the journal is J. of BornovaVet. Cont. Res. Inst.

**Bornova Veteriner Kontrol ve
Araştırma Enstitüsü
Adına Sahibi**

Necdet AKKOCA
Enstitü Müdürü

Yayın Kurulu/Editorial Board

Dr. Öznur YAZICIOĞLU
Dr. Özhan TÜRKYILMAZ
Uzm. Vet. Hek. Necla TÜRK

**Bu sayıda görev alan Yayın Danışmanları
(Board of Scientific Reviewers of this issue)**

Prof. Dr. Yılmaz AKÇA
Dr. Ayşen BEYAZIT
Prof. Dr. Tayfun ÇARLI
Prof. Dr. Meltem ÇETİN
Dr. Fethiye ÇÖVEN
Prof. Dr. Ahmet DOĞANAY
Prof. Dr. Hasan EREN
Prof. Dr. Osman ERGANİŞ
Prof. Dr. İrfan EROL
Dr. Seza ESKİİZMİRLİLER
Dr. Olcay Türe GÖKSU
Dr. Senem HACİÖMEROĞLU
Dr. Gülnur KALAYCI
Prof. Dr. Zafer KARAER
Prof. Dr. Kamil ÖCAL
Dr. İbrahim ÖZ
Doç. Dr. Hülya TÜRÜTOĞLU
Prof. Dr. Őinasi UMUR
Prof. Dr. Sibel YAVRU

*İsimler soyadına göre alfabetik sırayla yazılmıştır.

**Yazışma Adresi
(Correspondance Address)**

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü
35010 Bornova / İZMİR
Tel: 0 (232) 388 00 10
Fax: 0 (232) 388 50 52
E-posta: bornova@vet.gov.tr
Web site: <http://bornova.vet.gov.tr>
Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Bu dergi 1999 yılına kadar "Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi" adı ile yayımlanmıştır.

This journal was published with the name of "The Journal of Veterinary Control and Research Institute" until 1999.

BORNOVA VETERİNER KONTROL VE ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

*The Journal of
Bornova
Veterinary
Control and
Research Institute*

ISSN 1300-8307

Cilt/Volume: 30 Sayı/Number: 44 Yıl/Year: 2008

© Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitü Dergisi

Tüm hakları saklıdır. Bu derginin tamamı ya da Dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı ya da tamamı 5846 sayılı yasanın hükümlerine göre Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemi ile çoğaltılamaz, yayımlanamaz.

Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri

87 Sok. No. 4 / A Bornova

☎ (0.232) 343 64 54 ✉ metabasim@gmail.com

İzmir, 2008

İÇİNDEKİLER

CONTENTS

Doğal enfeste sığırlardaki Ixodid kenelere karşı Flumethrin (%1 dökme) uygulamasının tedavi edici ve kalıcı etkisi üzerine araştırmalar Studies on therapeutic and residual effects of Flumethrin 1 % pour-on against Ixodid ticks on naturally infested cattle Bilal DİK, Uğur USLU	1
Aydın ve İzmir bölgesindeki sığırlardan <i>Pasteurella multocida</i>'nın izolasyonu, tiplendirilmesi ve antibiyotiklere duyarlılıkları The isolation, serotyping and antimicrobial susceptibility of <i>Pasteurella multocida</i> strains in cattle in Aydın and İzmir provinces Göksel ERBAŞ, Osman KAYA	7
İnfeksiyöz pankreatik nekrozis hastalığının teşhisi için enzyeme-linked immunosorbent assay geliştirilmesi Development of enzyme-linked immunosorbent assay method for diagnosis of infectious pancreatic necrosis disease Buket ÖZKAN ÖZYER, Haşmet ÇAĞIRGAN	15
Karadeniz bölgesi <i>Culicoides</i> (Diptera: Ceratopogonidae) türleri üzerine bir araştırma A study on <i>Culicoides</i> (Diptera: Ceratopogonidae) species in Black sea region in Turkey Bilal DİK, Mitat KURT, İsmail AYDIN	23
Et ve et ürünlerinde ELISA tekniği ile türlerin tespiti Determination of species in meat and meat products with ELISA technique Özhan TÜRKYILMAZ, Hülya IRMAK	27
Olgu Raporu/ Case Report	
Avian influenza A (H5N1) Kızıksa-Manyas / Türkiye Ekim 2005 Avian influenza A (H5N1) in Kızıksa-Manyas/ Turkey on October 2005 Hanifi ERTURUN	33
Bir koyun sürüsünde tetanoz olgusu A tetanus case in a sheep flock Seza ESKİİZMİRLİLER, Serra TUNALIGİL, Mehmet ÖZDEN, Lütfi AVSEVER	39
Derleme/ Review	
Laboratuvar hayvanlarında kan alma teknikleri Removal techniques of blood from laboratory animals Mustafa İSSİ	43
Laboratuvar hayvanlarının önemli helmintozları ve kontrolü Important helminth infections of laboratory animals and their control Hakkı ÜNLÜ, Hasan EREN	49

DOĞAL ENFESTE SİĞİRLARDAKİ IXODİD KENELERE KARŞI FLUMETHRİN* (% 1 DÖKME) UYGULAMASININ TEDAVİ EDİCİ VE KALICI ETKİSİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

STUDIES ON THERAPEUTIC AND RESIDUAL EFFECTS OF FLUMETHRİN 1 % POUR-ON AGAINST IXODİD TICKS ON NATURALLY INFESTED CATTLE

Bilal DİK¹

Uğur USLU¹

Geliş Tarihi (Received): 01.02.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 09.06.2008

ÖZET

Bu araştırma % 1'lik Flumethrin* pour-on'un doğal enfeste sığırıldaki Ixodid kenelere karşı etkisinin belirlenmesi amacıyla Temmuz-Eylül 2007 tarihleri arasında Konya ilinin Çumra ilçesine bağlı Taşağıl köyünde yapılmıştır. Bu amaçla, muayene edilen ve Ixodid kenelerle enfeste oldukları belirlenen 27 sığır; 21'i tedavi, altısı kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Tedavi grubundaki sığırılara 1 mg/kg dozda Flumethrin pour-on tarzda uygulanmış, kontrol grubundaki sığırılara ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Tedaviden 24 saat sonra sığırılara kene yönünden incelenmiş, üzerlerindeki canlı ve ölü kene sayıları not edilmiştir. Kontroller 42. güne kadar birer hafta arayla devam etmiş ve bu süre sonunda, elde edilen sonuçlar istatistik açıdan x2 testi ile değerlendirilmiştir. Flumethrin'in tedavi grubundaki sığırıldaki Ixodid kenelere karşı etkisi ilk uygulamadan 24 saat sonra % 94.69 olarak tespit edilmiştir. Bu etki yedinci günde % 97.79, 14. günde % 96.90, 21. günde % 98.67, 28. günde % 92.48, 35. günde % 37.17 ve 42. günde % 78.32 olarak ortaya çıkmıştır. İlaçlanan sığırılarda vücut ısılarında, nabız ve solunum sayılarında önemli herhangi bir değişikliğe rastlanmamış, ayrıca ilaçlanan sığırılarda derilerinde alerjik reaksiyon gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Flumethrin, Ixodid kene, kalıcı etki, terapötik etki, Türkiye.

SUMMARY

This study was conducted for determination effect of Flumethrin 1% pour-on against Ixodid ticks on naturally infested cattle between July and September 2007 at the Taşağıl village, Cumra district, Konya province. For this aim, 27 cattle examined and determined infested with Ixodid ticks were divided into two groups. While cattle in the Group I (n=21) were treated with Flumethrin 1 % pour-on at the dose of 1 mg/kg, Group II was kept as a control (n=6). One day later, all the cattle were checked for ticks, and the number of ticks either dead or alive on the animals were noted. The cattle were controlled for ticks with one week interval until 42nd day. Effect of Flumethrin 1 % pour-on against Ixodid tick in the cattle in Group I were determined as 94.69 % after 24 hour from the application. This effect was estimated as 97.79 % at 7th day, 96.90 % at 14th day, 98.67 % at 21th day, 92.48 % at 28th day, 37.17 % at 35th day and 78.32 % at 42th day. No side effect was observed depend on application of Flumethrin 1 % in the cattle in Group I. Additionally, no allergic reaction occurred in the dermis of the cattle treated.

Keywords: Flumethrin, Ixodid Ticks, residual effect, therapeutic effect, Turkey.

GİRİŞ

Ixodid keneler, özellikle ilkbahar-sonbahar ayları arasında koyun, keçi ve sığır gibi hayvanları irrite ederek, et-süt verimlerinde ve fertilitede azalmaya, abortlara ve büyümede gerilemeye neden olmakta, genç hayvanlarda kene felcine yol açmaktadır. Theileriosis, babesiosis ve anaplasmosis gibi bir çok hastalığın naklinde rol oynayarak, ölümlere sebep olan Ixodid keneler hayvancılık sektörüne büyük zararlar vermektedirler (3, 4, 10). İnsanlarda ise Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi ve Lyme hastalığının bulaşmasında rol oynamakta-

dırlar (4, 10). Son yıllarda, Türkiye'de Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi'ne bağlı olarak çok sayıda ölümlere rastlanmaktadır.

Bu nedenlerden dolayı Ixodid kenelerle düzenli olarak mücadele edilmesi gerekmekte ve bu amaçla, özellikle formamidinler, organik fosforlu ve sentetik pretroidli akarisitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bazı akarisitler yeterince etkili olmaları veya et ve sütte uzun süre kalıntı bırakmalarından dolayı hayvanların üzerlerindeki Ixodid kenelerle mücadelede kullanılmamaktadır (4).

* Flumet® % 1 Pour-on

¹ Prof.Dr. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji A.D. 42075, Konya/TÜRKİYE.

¹ Doç. Dr. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji A.D. 42075, Konya/TÜRKİYE.

Dünyanın bir çok ülkesinde yapılan çalışmalarda, pour-on tarzında kullanılan % 1'lik Flumethrin'in sığırlardaki Ixodid kenelere karşı yüksek oranda etkili olduğu belirtilmiştir (5-9,11-15). Hamel ve Duncan (8); Zimbabwe'de, 1 mg/kg dozda, pour-on tarzda uyguladıkları Flumethrin'in 14 ve 21 gün aralıklarla kullanıldığında Ixodid kenelere karşı yüksek etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Sosa (14), Uruguay'da, *Boophilus microplus* larvalarıyla deneysel olarak enfeste ettiği sığırlara % 1'lik Flumethrin'i 0.5 mg/kg, 1 mg/kg ve 1.5 mg/kg dozlarda, pour-on yolla uygulamış ve sığırları yaklaşık olarak iki ay süreyle kene yönünden kontrol etmiştir. Flumethrin'in 1 mg/kg ve 1.5 mg/kg dozlarda kullanıldığında larva ve nimflere karşı % 100 etkili olduğunu, erginlere karşı % 100 kalıcı etkisinin 0.5 mg/kg dozda kullanıldığında 17.1 mg/kg dozda kullanıldığında 23, 1.5 mg/kg dozda kullanıldığında ise 34. günde sona erdiğini bildirmiştir. Dorn ve ark (6) Güney Amerika'nın değişik ülkelerinde, *Boophilus microplus*'a karşı 1 mg/kg dozda denedikleri % 1'lik Flumethrin'in 21. günde % 99'dan fazla etkili olduğunu, bu etkinin 28. günden itibaren yavaş yavaş azaldığını ve 42. günde % 92-96'ya indiğini belirtmişlerdir. Petracchia ve ark (13)'da benzer sonuçları elde etmişler, aynı dozda kullandıkları % 1'lik Flumethrin'in sığırlarda *B.microplus*'un kontrolünde çok uzun süre etkisini devam ettirdiğini ifade etmişlerdir.

Türkiye'de, gerek sığırlarda (2), gerekse koyun (1, 7) ve keçilerde (7) başarılı sonuçlar alındığı ifade edilmiştir. Cantoray ve Dik (2) % 1'lik Flumethrin'in doğal enfeste sığırlarda Ixodid kenelere karşı % 99.5 oranında etkili olduğunu bildirmişler, bununla birlikte, ilacın ne kadar süreyle koruyucu etkiye sahip olduğu konusunda bilgi vermemişlerdir.

Bu araştırma; Flumethrin % 1 pour-on'un, doğal enfeste sığırlardaki Ixodid kenelere karşı tedavi edici ve koruyucu etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırmada kullanılacak sığırların temini için Konya ili Karatay ilçesine bağlı Karakaya, Göçü, Yarma, Ortakonak, Zivecik ve İsmil kasaba ve/veya köylerine gidilmiş ve bu köylerdeki sığırlar keneler yönünden incelenmişlerdir. Kenelerle enfeste sığır sayısının ve/veya enfeste sığırlardaki kene sayısının yeterli olmaması nedeniyle Çumra

ilçesine bağlı Taşağıl köyüne gidilmiştir. Bu köyde, yedi farklı kişiye ait, 10 adedi meraya çıkmayan ve gün boyu kapalı ahır veya ahırın önündeki birkaç yüz m²'lik alanda yetiştirilen, 17 adedi ise gündüzleri meraya çıkıp akşamları ahırlara dönen, yaşları 1-9, canlı ağırlıkları 140-225 kg arasında değişen, ikisi erkek diğerleri dişi 27 Yerli Kara veya Güney Anadolu Kırmızısı sığır denemeye alınmıştır.

Metot

Hayvanların kulak numaraları, ırkları, yaşları ve cinsiyetleri not edildikten sonra, nabız sayıları ve vücut ısıları da ölçülerek kaydedilmiştir. Vücut ağırlıkları şeritmetre ile ölçülmüştür. Sığırlar, tedavi ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Sekizi meraya çıkmayan 21 sığır tedavi grubunu, ikisi meraya çıkmayan altı sığır ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Araştırma boyunca, tedavi ve kontrol gruplarındaki sığırlar bir arada tutulmuşlardır.

Tedavi grubundaki hayvanlar % 1'lik Flumethrin ile 1 mg/kg CA (1 ml/10 kg CA) dozda, sırt çizgisi boyunca dökme (pour-on) tarzında ilaçlanmış, kontrol grubundaki sığırlara ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

İlaç uygulamasından 24 saat sonra ilk kontrol yapılmış, nabız sayıları, vücut ısıları ve hayvanların üzerlerindeki ölü ve canlı kenelerin sayıları not edilmiştir. Ölü keneler toplanarak, ayrı ayrı şişelere konulmuş ve üzerlerine tarih, yer ve hayvanın kulak numarasını belirten etiketler yapıştırılmıştır.

Flumethrin'in kalıcı etkisinin belirlenmesi amacıyla altı hafta süreyle, haftada bir kez Taşağıl köyüne gidilmiş ve tedaviden sonra bütün hayvanların üzerlerindeki ölü ve canlı keneler sayılarak not edilmiştir. Ölü keneler toplanmış ve stereo mikroskopta incelenerek teşhis edilmişlerdir.

Araştırma sonunda yapılan kontrollerde, tespit edilen bütün keneler toplanarak ayrı ayrı şişelere konulmuş ve şişelerin üzeri etiketlenmiştir. Muhtemel bir reenfestasyona karşı bütün sığırlar aynı doz ve şekilde % 1'lik Flumethrin ile ilaçlanmışlardır.

Araştırma sonunda, hayvanların üzerlerindeki ölü ve/veya canlı keneler toplanarak, her sığırdan toplananlar bir arada olmak üzere ayrı ayrı şişelere konulmuş ve etiketlenmiştir. Laboratuara getirilen bütün keneler stereo mikroskopta incelenerek cinsiyetleri ve gelişme dönemleri (erkek, dişi veya nimf) tespit edilmiş ve erginler morfolojik yapıla-

rına bakılarak tür, nimfler ise cins seviyesinde teşhis edilmişlerdir.

Flumethrin'in etkisinin istatistik açıdan değerlendirilmesi amacıyla sonuçlara χ^2 testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Araştırmanın ilk iki haftasında, hayvanların üzerlerinden toplanan ölü kenelerin tamamı *Hyalomma detritum* olarak teşhis edilmiş, bu türün sadece erkek ve dişilerine rastlanmıştır. *Hy. detritum*'un özellikle meme bölgesinde, testislerde, ön ve arka bacakların özellikle iç kısımlarında tutunduğu gözlenmiştir. 14-35. günler arasında sığırlarda görülen kenelerin tamamının *Rhipicephalus* spp, oldukları ve nimf döneminde buldukları saptanmıştır. 42. günde yapılan muayenelerde iki adet dişi *Hy.anatolicum excavatum*'a rastlanmış, nimf dönemindeki diğer bütün keneler *Rhipicephalus* spp. olarak teşhis edilmiştir.

Araştırma süresince tedavi ve kontrol gruplarında rastlanan ölü ve canlı kene sayısı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Bu tabloda da görüleceği gibi, araştırma başlangıcında, tedavi grubundaki 21 sığırdaki 226 adet,

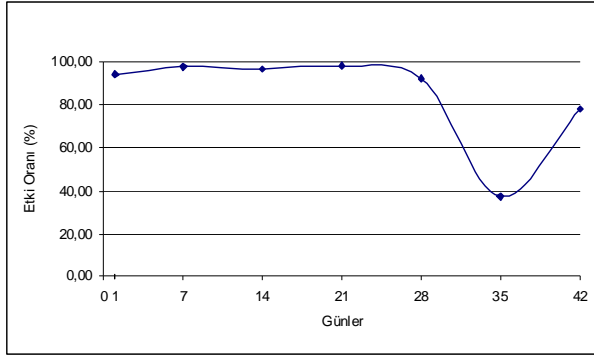
kontrol grubundaki altı sığırdaki ise 39 adet canlı kene (tamamı ergin ve yarı doymuş) sayılmıştır. Tedavi başlangıcında, sığırların hiç birisinde tam doymuş dişilere veya nimflere rastlanmamıştır. Aynı tabloda da görüleceği gibi, Flumethrin'in kullanılışından bir gün sonra yapılan ilk kontrolde, tedavi grubundaki sığırlarda 63 adet ölü, 12 adet de canlı keneye rastlanmıştır. Kontrol grubundaki sığırlarda ise bir adet ölü, 35 adet canlı kene tespit edilmiştir. Bu veriler değerlendirildiğinde, Flumethrin'in Ixodid kenelere karşı tedavi edici etkisi 24 saat sonra % 94.69 olarak tespit edilmiştir. Bir hafta sonra yapılan kontrollerde, tedavi grubundaki sığırlarda 14 adet ölü, beş adet de canlı keneye rastlanırken, kontrol grubundaki sığırlarda üç adet ölü, 27 adet canlı kene tespit edilmiş ve ilacın etkisi % 97.79 olarak saptanmıştır. Flumethrin'in Ixodid kenelere karşı 14 gün sonraki etkisi % 96.90, 21 gün sonraki etkisi ise % 98.67 olarak tespit edilmiştir. İlacın uygulandıktan 14 gün sonra tedavi grubundaki sığırların ikisinde birer adet ölü kene saptanmış, 21. günden itibaren gerek tedavi grubu ve gerekse kontrol grubundaki sığırlarda bir daha ölü keneye rastlanmamıştır. Flumethrin'in tedaviden 28 gün sonraki etkisi % 92.48 olarak tespit edilmiştir. Tedavi grubundaki hayvanlarda canlı kene sayısının 28. günden itibaren

Tablo 1. Flumethrin (%1 dökme) uygulanan ve uygulanmayan doğal enfeste sığırlarda bulunan Ixodid kene sayısı

Gruplar	Sıra No	Kene Sayısı																	
		Günlere→		Başlangıç		1. gün		7. gün		14. gün		21. gün		28. gün		35. gün		42. gün	
		Kulak No		Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı
Tedavi Grubu	1	168968	8	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	4353	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	4364	7	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	4354	30	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	168969	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	4355	18	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	4360	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	4372	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	8606	8	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3N	0	15N
	10	8608	5	0	0	0	0	0	0	2	0	1N	0	0	0	10N	0	3 (2N)	0
	11	8613	2	0	0	0	0	0	0	2N	0	0	0	0	0	0	0	0	8N
	12	8610	30	2	7	2	0	0	3N	0	0	0	1N	0	17N	0	16N	0	0
	13	7548	36	8	0	5	1	1	0	0	2N	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	7549	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2N	0	0	0	0
	15	8605	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16	5213	15	4	1	3	0	0	0	0	0	0	0	4N	0	100N	0	10N	0
	17	5228	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	12N	0	10N	0	3N	0
	18	5658	12	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	19	5659	8	2	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	5662	15	15	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	5654	13	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol Grubu	22	168972	3	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	23	4375	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31N	0	5N	0	
	24	8609	6	0	6	2	0	0	10N	0	9N	0	1N	0	11N	0	20N	0	
	25	8604	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3N	0	1N	0	
	26	5655	4	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	27	158411	22	0	24	0	14	0	42	0	42	0	100	0	0	0	1N	0	

arttığı gözlenmiş, 35. günde rastlanan canlı kene sayısı 142'ye ulaşmış ve 35. günde Flumethrin'in etkisi % 37.17 olarak saptanmıştır (Grafik 1).

Grafik 1. Flumethrin'in Doğal Enfeste Sığırlardaki Ixodid Kenelere Karşı Kalıcı Etkisi



Tedavi grubunda, meraya çıkarılmayan hayvanlarda, ilaçlamanın başlangıcından araştırmanın bitimine kadarki süre içinde canlı kene saptanmazken, meraya çıkan hayvanlarda 14. günden itibaren reenfestasyonlara rastlanmış ve yukarıda da belirtildiği gibi bir sonraki hafta bu kenelerin de ortadan kayboldukları gözlenmiştir.

Kontrol grubundaki hayvanların bazılarında, ilk bir hafta içinde ölü kenelere rastlanmış, daha sonra yapılan muayenelerin bazılarında da canlı kenelerin sayılarında bir azalma görülmüştür.

İlacın kullanımına bağlı olarak denemede kullanılan hayvanların nabız sayıları ve vücut ısılarında kayda değer herhangi bir farklılık görülmemiş, derilerinde herhangi bir reaksiyon şekillenmemiştir.

TARTIŞMA

Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada % 1'lik Flumethrin'in ixodid kenelere karşı yüksek oranlarda etkili olduğu tespit edilmiştir (5-9, 11-15).

Değişik araştırmacılar (6, 12-14) 1 mg/kg dozda, pour-on yolla kullanılan % 1'lik Flumethrin'in sığırlardaki kenelere karşı yüksek etkisinin uzun süre devam ettiğini belirtmişlerdir.

Cantoray ve Dik (2) 1 mg/kg dozda kullanılan % 1'lik Flumethrin'in, doğal enfeste sığırlardaki Ixodid kenelere karşı % 99.5 oranında etkili olduğunu bildirmişler, fakat kalıcı etkisini araştırmamışlardır. Bununla birlikte aynı dozda kullanılan % 1'lik Flumethrin'in koyun (1, 7) ve keçilerdeki (7) kene enfestasyonlarına karşı oldukça iyi sonuçlar verdiğini ifade etmişlerdir. Dumanlı ve Yılmaz (7)

% 1'lik Flumethrin'in koruyucu etkisinin koyunlarda dört, keçilerde üç hafta sürdüğünü kaydetmişlerdir. Akkaya ve ark (1) reenfestasyonun sekizinci gün görüldüğünü, 19. günde ise tedavi ve kontrol gruplarındaki ortalama kene sayılarının birbirine yaklaştığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise % 1'lik Flumethrin'in doğal enfeste sığırlardaki Ixodid kenelere karşı hem tedavi edici etkisi hem de kalıcı etkisi değerlendirilmiştir. Tedavi edici etki, ilacın uygulanmasından 24 saat sonra % 94.69 olarak tespit edilmiş ve bu etki sekizinci gün % 97.79 olarak tespit edilmiştir. On dördüncü günden itibaren, meraya çıkan sığırların bazılarında reenfestasyonlar görülmüş ve bu sığırların üzerlerinde ölü kenelerin yanı sıra canlı kenelere de rastlanmaya başlamıştır. Fakat bu kenelerin, *Rhipicephalus sp.* nimfi oldukları gözlenmiş ve bunların meraya çıkan hayvanlara, oradan tutundukları kanısına varılmıştır. Ahırda beslenen ve/veya sadece ahırın önündeki avluya çıkarılan tedavi grubundaki hayvanlarda reenfestasyonlara rastlanmaması da bu durumu desteklemektedir. Araştırmanın başında rastlanan kenelerin tamamı *Hy.detrutum* olarak teşhis edilmiş ve hepsinin ergin dönemde oldukları gözlenmiştir. Fakat 14. günden 42. güne kadar tespit edilen kenelerin tamamı *Rhipicephalus sp.* olarak teşhis edilmiş ve hepsinin yarı doymuş nimf oldukları gözlenmiştir. Flumethrin uygulamasından sonra ilk ergin keneye 42. günde rastlanmıştır. İstatistik verilere göre, Flumethrin'in Ixodid kenelere karşı etkisinin 35. güne kadar % 90'ların üzerinde olduğu saptanmış, fakat 35. günde bu etkinin birdenbire düştüğü dikkati çekmiştir. Bunun nedeni, 35. güne kadar genellikle tedavi grubundaki sığırların birkaç tanesinde birkaç adet canlı keneye rastlanırken, o gün sadece bir hayvanda (5213 kulak no'lu) 100 adet nimfin görülmesinden kaynaklanmaktadır. Bir hafta sonra, aynı sığırın aynı kulağında 10 adet nimfin görülmesi, diğer nimflerin doyduktan sonra toprağa düşmüş olabileceği ihtimalinin yanı sıra, ilacın etkisine bağlı olarak öldükleri ihtimalini de akla getirmektedir. Aynı hayvanın aynı kulağında, bir hafta önce, hepsi aynı gelişme döneminde olmasına rağmen, bir hafta sonra sadece on adet nimfin kalması ikinci ihtimali güçlendirmekte ve ilacın etkisinin devam ettiğini göstermektedir. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların (6, 12, 14) sonuçlarını da desteklemektedir.

Tedavi grubundaki hayvanlarda görülen canlı kene sayısı her hafta değişiklik göstermiştir. Araştırmanın başlangıcındaki kenelerin ergin *Hy. detrutum*, 28. günden sonra saptanan kenelerin

Rhipicephalus sp. nimfi olmaları, bir hafta sonra yapılan muayenelerde kontrol grubundaki hayvanların bazılarında görülen nimflerin sayılarında herhangi bir azalma görülmezken tedavi grubundaki hayvanlarda görülen nimflerin bir sonraki hafta görülmemesi ilacın etkisinin devam ettiğini göstermektedir. Bu durum 28. güne kadar bu şekilde devam etmiş, fakat daha sonra, aynı hayvanlarda görülen kenelerin aynı gelişme dönemlerinde olmaları, sayılarında az veya çok artışların görülmesi, ilacın koruyucu etkisinin azalmaya başladığını ifade etmektedir.

Kontrol grubundaki hayvanların bazılarında, ilk bir hafta içinde ölü kenelere rastlanması, daha sonra yapılan muayenelerin bazılarında canlı kenelerin sayılarında bir azalmanın görülmesi, özellikle tedavi ve kontrol grubundaki hayvanların aynı bölmelerde tutulması ve bu nedenle kısmen de olsa birbirleriyle temas etmeleri sonucu ilaçtan etkilenmiş olabileceklerini akla getirmektedir. Bununla birlikte, 158411 kulak numaralı sığırdaki 14 ve 21. günlerde 42 adet, 28. günde ise 100 adet doymuş nimfe rastlanırken, bir hafta sonra hiçbir keneye rastlanmaması, bu nimflerin doyarak gömlek değiştirmek üzere toprağa inmiş olabileceklerini göstermektedir.

Sonuç olarak; 1 mg/kg dozda, sırt çizgisi boyunca dökme şeklinde uygulanan % 1'lik Flumethrin'in Ixodid kenelere karşı % 90'ın üzerinde etkili olduğu, bu etkinin bir ay süreyle devam ettiği, daha sonra etkinin azaldığı, ilaç uygulanan hayvanlarda herhangi bir yan etkinin görülmediği tespit edilmiştir. Kenelerin yoğun olarak görüldükleri bölgelerde, kene sezonu boyunca birkaç kez Flumethrin kullanılmasının kene sayısında ve kenelerle nakledilen hastalıkların görülme sıklığında büyük oranda azalmaya neden olacağı kanısına varılmıştır. Diğer taraftan, kene veya kenelerle nakledilen hastalıklarla mücadelede aynı tür akarisitlerin kullanılmasının direnç yol açacağı unutulmamalıdır. Bunun için, hayvanlar sağmal dönemde olup olmadıkları da dikkate alınarak, et ve/veya sütte kalıntı bırakmayan veya kabul edilebilir düzeyde kalıntı bırakan akarisitlerle dönüşümlü olarak ilaçlanmalı, bunlara ek olarak, ahırların fiziki yapıları düzeltilmeli ve buralar özellikle sonbahar-ilkbahar ayları arası dönemde kalıcı akarisitlerle ilaçlanmalıdır.

TEŞEKKÜR

Araştırma süresince, Çumra'nın Taşağıl köyüne gidiş-gelişlerimizde ve gerekli malzemenin

temininde yardımcı olan Seyit Hanoğlu'na teşekkürü borç biliriz.

KAYNAKLAR

1. Akkaya, H., Vuruşaner, C., Gargılı, A., Gülanber, A., Arslan, M.Ö. (1994) *Kıvırcık koyunlarında kene enfestasyonuna karşı % 1 Flumethrin (Bayticol Pour-on)'in etkisi*. T. Parazitoloj. Derg., 18 (1): 68-73.
2. Cantoray, R., Dik, B. (1988) *Bayticol pour-on'un keneler üzerine etkisi ile ilgili saha çalışmaları*. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg., 4 (1): 279-284.
3. Cordoves, C.O., Farinas, J. L., Fleites, R., Garrido, P., Garcia, J., Hernandez, S. (1986) *The economic damage due to ticks in a dairy herd*. Vet. Med. Rev., 1: 46-49.
4. Dik, B. (2003) *Veteriner Entomoloji*. Ders Kitabı, Selçuk Üniversitesi Matbaası, 224 sayfa, Konya.
5. Dorn, H., Pulga, M. (1985) *Field trials with Flumethrin pour-on against Boophilus microplus in Brazil*. Vet. Med. Rev., 2: 146-151.
6. Dumanlı, N., Yılmaz, H. (1992) *Koyun ve keçilerde kene enfestasyonuna karşı Flumethrin'in etkisi üzerine araştırmalar*. Selçuk Üniv.Vet. Fak. Derg., 8 (1): 17-19.
7. Hamel, H.D., Van Amelsfoort, A. (1985) *Tick control with Flumethrin 1 % m/v pour-on under South African Field Conditions*. Vet. Med. Rev., 2: 132-145.
8. Hamel, H.D., Duncan, I.M. (1986) *Cattle tick control in Zimbabwe with flumethrin 1% pour-on*. Vet. Med. Rev., 2: 115-122.
9. Heath, A.C.G., Wilson, P.R., Roberts, H.M. (1988) *Evaluation of the efficacy of Flumethrin 1 % pour-on against the New Zealand cattle tick, Haemaphysalis longicornis, on farmed red deer using laboratory-reared ticks*. Vet. Med. Rev., 59 (1): 23-27.
10. Karaer, Z., Yukarı, B.A., Aydın, L. (1997) *Türkiye keneleri ve vektörlükleri*. 363-434. Özcel, M.A.; Daldal, N. (Editörler): Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 13, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
11. Liebisch, A. (1986) *Bayticol pour-on: A new product and a new method for the control of stationary ectoparasites in cattle*. Vet. Med. Rev., 1: 17-27.
12. Mekonnen, S. (2000) *Efficacy of flumethrin 1 % pour-on against ticks on cattle under field conditions in Ethiopia*. Onderstepoort J. Vet. Res., 67 (4): 235-237.
13. Petraccia, C., Nari, A., Cardazo, H. (1988) *Trials on the strategic control of Boophilus microplus with flumethrin 1 % pour-on in Uruguay*. Vet. Med. Rev., 59 (1): 18-22.

14. **Sosa, E.** (1985) *Evaluation of the efficacy and residual effect of Flumethrin pour-on against *Boophilus microplus* in cattle in Uruguay.* Vet. Med. Rev., 2: 126-131.
15. **Werner, G., Posch, G., Ilchmann, G., Hiepe, Th.** (1989) *Exploratory studies on the efficacy of Bayticol pour-on in sheep, cattle and camels in the Peoples's Republic of Mongolia.* Vet. Med. Rev., 60 (1-2): 40-42.

Yazışma Adresi:

Prof. Dr. Bilal Dik

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Parazitoloji Anabilim Dalı

42031 Konya

e-mail: bdik@selcuk.edu.tr

AYDIN VE İZMİR BÖLGESİNDEKİ SIĞIRLARDAN *PASTEURELLA MULTOCIDA*'NIN İZOLASYONU, TIPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI*

THE ISOLATION, SEROTYPING AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *PASTEURELLA MULTOCIDA* STRAINS IN CATTLE IN AYDIN AND IZMIR PROVINCES

Göksel ERBAŞ¹

Osman KAYA²

Geliş Tarihi (Received): 05.03.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 21.11.2008

ÖZET

Bu alışmada, *Pasteurella multocida* izolasyonu amacıyla kullanılan toplam 570 adet siğır intratracheal svabının 350 adedi İzmir ilinde, 220 adedi ise Aydın ilinde bulunan mezbahalardan temin edildi. Araştırmada kullanılan 570 adet örneğin 28 (% 4.9)'inden *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapıldı. İzmir ilinden alınan 350 örnekten 18 adet (% 5.14) ve Aydın ilinden alınan 220 örnekten 10 adet (% 4.54) *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapıldı. Çalışmada 28 adet saha suşunun 15 (% 53.6) adedi tip B, 10 (% 35.7) adedi tip A ve 1 (% 3.5) adedi de tip D olarak tespit edildi. İzolatlardan 2 (% 7.2) adedi ise tiplendirilemedi. *P. multocida* suşlarının % 93.0 florfenikol'e, % 61.0 enrofloksasin'e, % 54.0 oksitetrasiklin'e duyarlı olduğu bulundu. *P. multocida* suşlarının tümünün eritromisin ve sulfametaksazol-trimetoprim'e % 82.0, gentamisin'e % 64.0 ve amoksisillin-klavulanik asid'e ise % 61.0 oranlarında dirençli olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: İzolasyon, identifikasyon, *Pasteurella multocida*, tiplendirme.

SUMMARY

In this study, a total of 570 intratracheal swabs were examined for the *Pasteurella multocida* isolation. Three hundred fifty of these samples were taken from İzmir province and 220 samples were collected from the slaughterhouses located in Aydın province. *Pasteurella multocida* strain was isolated and identified in 28 (4.9 %) samples of the 570 intratracheal swabs examined in this study. *Pasteurella multocida* was identified from 18 (5.14 %) of the 350 samples taken from İzmir province and from 10 (4.54 %) of the 220 samples taken in Aydın province. In the study, 15 (53.6 %) of 28 field strains of *Pasteurella multocida* were serotyped as type B, 10 isolates (35.7 %) as type A and 1 (3.5 %) as type D. Two strains (7.2 %) weren't be able to serotype. The *Pasteurella multocida* strains were found to be susceptible to flourphenicol (93.0 %), enrofloxacin (61.0 %), oxytetracycline (54.0 %). All the isolates were found to be resistant to erythromycin (82.0 %), sulphamethaxazole-trimethoprim (82.0 %), gentamycin (64.0 %) and amoxicilline-clavulanic acid (61.0 %).

Key Words: Isolation, identification, *Pasteurella multocida*, serotyping

GİRİŞ

Siğırlarda görölen üst solunum yolu hastalıkları yemden yararlanma, süt veriminde düşme ve canlı ağırlık kaybına neden olduğu gibi ilaç ve bakım masraflarının artmasına yol açmaktadır. Hastalığın ortaya çıkışında taşıma, süttten kesme, kalabalık ahırlarda barınma ve ani iklim değişiklikleri gibi stres faktörleri ile birden fazla mikroorganizma [virüsler (İnfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovine Viral Diarrhea Virüs (BVD), Parainfluenza-3 (PI-3), Respiratory Syncytial virüs (RSV)], mantar, çeşitli bakteriler (*Pasteurella spp.*, *Streptococcus*

spp., *Escherichia coli*, *Acinetobacter spp.*, *Mycoplasma spp.* vb) ve parazit türleri rol oynadığından etiyolojik olarak kompleks bir yapıya sahip olduğu kabul edilmektedir (16, 28, 40). *Pasteurella* grubu mikroorganizmalar insanlarda ve hayvanlarda birçok enfeksiyonun primer etkenleridir. Siğırlarda görölen solunum yolu hastalıklarından hemen hemen en önemlisi olan Pnömonik Pastörelloz, *P. multocida* ve *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* ile ilişkili olup, bronkopnömoni, toksemi, eksudatif pnömoni ile karakterizedir. *Pasteurella multocida* siğırlarda Solunum Yolu Hastalığı (Bovine Respi-

* ADU-BAP-VTF-06007 Doktora tez projesi ve TAGEM HS/01/02/07/120 projelerinden özetlenmiştir.

1 Uzman Veteriner Hekim, Dr., Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR

2 Prof. Dr., Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, AYDIN

ratorik Diseases - BRD) olarak bilinen hastalıkların yanısıra Hemorajik Septisemi (HS)'ye de sebebiyet vermektedir (11, 33).

Sığır solunum sistemi hastalıklarının, et ve süt sığırcılığında, özellikle Amerika, Kanada, İngiltere ve Avrupa başta olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde halen büyük kayıplara neden olduğu bilinmektedir (17, 44). Pnömonik Pastörelloz'un Kuzey Amerika'da sığır endüstrisini yılda en az 640 milyon doların üzerinde bir kayba uğrattığı (8, 25) ve kayıpların stres faktörlerinin ve/veya virüs ve bakterilerin etkisi ile daha da arttığı ortaya konulmuştur (16, 43).

Pasteurella multocida, sığırlarda pnömoniye, meningoensefalitis ve mastitise (38), hemorajik septisemiye (11), domuzlarda atrofik rinit ve pnömoniye (13), koyunlarda nadir bir şekilde pnömoniye (18), laboratuvar hayvanlarında çeşitli enfeksiyonlara (30) sebep olmaktadır. Özellikle üst solunum yolu hastalıklarında etkenin tek başına hastalığı oluşturabilmesi yanında diğer mikroorganizmalar, viruslar ve bakım koşulları da bu hastalıklara hazırlayıcı faktör olabilirler. Hastalık genelde sığırlarda IBR, BVD gibi viral hastalıklarla kombine seyretmektedir. Mikroorganizma, hayvanın direncinin kırıldığı durumlarda patojenitesini artırmakta ve pnömoni tablosunu güçlendirmektedir. Hemorajik septisemi hastalığı ise akut ve oldukça ölümcül seyreden ve *P. multocida*'nın çeşitli serotiplerinin neden olduğu septisemik bir hastalıktır.

Pasteurella multocida, kapsüller ve somatik antijenlerine göre tiplendirilebilmektedir. *P. multocida*'nın A, B, D, E ve F olmak üzere 5 kapsüler serotipi tanımlanmıştır. Ayrıca *P. multocida*'nın 16 somatik serotipi vardır. *Pasteurella multocida*'nın serogrup tiplerinin tayininde en önemli rolü bakterinin kapsülü üstlenmektedir (40). *Pasteurella multocida* serogrup B ve E sığır ve buffalolarda hemorajik septisemi ile ilgilidir (11), serogrup A kanatlı hayvanlarda kanatlı kolerasına neden olur, serogrup D ise domuzlarda atrofik rhinitis ile ilgilidir (9). Sığır hemorajik septisemisinden Güneydoğu Asya'da B:6, Afrika'da E:6 sorumlu tutulmuştur. Halbuki sığır solunum yolu hastalığı başlıca serogrup A ile ilgilidir (11).

Veteriner Hekimlerin hasta sağaltımında, antibiyotiklere karşı olan direnç en büyük problemlerden biridir. Bu problemin, antimikrobiyal ilaçların genellikle çok yüksek dozlarda ve hatalı seçimlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (12)

Solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde özellikle geniş spektrumlu antibiyotikler, sulfonamidler veya bunların kombinasyonları etkilidir (27). Akgül ve ark (1), pneumonili buzağılarda tilmikosinin, Picavet ve ark. (36), ise tilmikosin ile linkomisın+spektinomisin kombinasyonlarının, Gruenau (20), bronkopnömonili buzağı ve besi danalarında tilmikosin, prokainpenisilin, gentamisin ve linkomisın+spektinomisin kombinasyonlarının, Aslan ve ark (5), enzootik pnömonili danalarda penisilin+streptomisin kombinasyonlarının, Gül ve ark (21) ise enzootik pnömonili dana ve kuzularda amoksisilin uygulamalarının etkili olduğunu bildirmektedirler.

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde önemli ekonomik kayıplara neden olabilecek üst solunum yolu hastalıkları ve hemorojik septisemi'ye sebebiyet veren *P. multocida*'nın, hangi kapsüler serotiplerinin daha etkin olduğunun belirlenmesi ve etkenin duyarlı olduğu antibiyotiklerin tespiti ve aşı geliştirme çalışmalarında yardımcı olunması hedeflenmiştir.

Bu araştırma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (VTF 06007 numaralı proje) ve Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (HS/01/02/07/120 numaralı proje) tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Örnekler: Bu çalışmada, *Pasteurella multocida* izolasyonu amacıyla kullanılan toplam 570 adet sığır intratracheal svabının, 350 adedi İzmir ilinde, 220 adedi ise Aydın ilinde bulunan mezbahalardan temin edildi. İntratracheal svaplar, hayvanların kesimleri sonrasında sığırların trachealarına steril olarak yapılan kesitlerden alındı. Örneklerin tamamı 1 yaş ve üstü sığırlardan temin edildi. Alınan svap örnekleri, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına soğuk zincir altında getirildi.

Standart *P. multocida* Suşları: *P. multocida*'nın 5 serotipinden olan A (7320), B (7372) ve D (6985) serotipleri Çek Cumhuriyeti'ndeki Ulusal Halk Sağlığı Enstitüsü (National Institute of Public Health)'nden temin edildi.

Deney Hayvanları: Standart *P. multocida* suşlarından antiserum hazırlamak amacıyla her bir suş için 3'er adet olmak üzere 1.5 - 2 kg ağırlığın-

daki Yeni Zelanda tavşanlarından 9 adet kullanıldı. Yeni Zelanda tavşanları Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Deneme Hayvanları Yetiştirme Biriminden sağlandı.

Antibiyotik Standartları: Florfenikol, Oksitetrasiklin, Enrofloksasin, Amoksisilin-Klavulanik asid, Gentamisin, Eritromisin, Sulfametaksazol-Trimetoprim etken maddelerini içeren antibiyotiklerin enjekttable formları, piyasadan temin edilerek dilüsyonların hazırlanmasında kullanıldı.

Kullanılan Besiyerleri: İzolasyon ve identifikasyon için % 7 koyun kanlı agar (Merck 1.10886), Mac Conkey Agar (Oxoid CM 115), Lassen'in üçlü tüp besiyerleri, indol test ortamı, nitrat test ortamı, *P. multocida* serotiplerinden ve saha izolatlarından antijen hazırlanmasında Brain Heart Infusion Broth (Oxoid CM 225), antibiyotiklere duyarlılık testinde kullanılan besiyerleri, Tyryptone Soya Broth (Oxoid CM 129), Mueller – Hinton Agar (Oxoid CM 0337) kullanıldı.

Ayıracılar: İndol ayıracı (Kovaks ayıracı), nitrat ayıracı

Solüsyonlar: Formollü (% 0.3) fosfat buffer tuz solüsyonu

Otomatize İdentifikasyon Sistemi: Otomatize identifikasyon amacıyla Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde bulunan Vitek II Compact (Fransa - Biomerieux) cihazı kullanıldı.

Metot

İzolasyon ve İdentifikasyon: Mezbahalarda kesim sonrası sığırların trachealarından alınan svap örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara getirildi ve % 7'lik kanlı agara ekimleri yapıldı. Besiyerleri 37 °C'de 24 – 48 saat inkübe edildi (31). İzolasyon besiyerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri, hemoliz özellikleri ve gram boyama özellikleri incelenerek, Tablo 1'de belirtilen kriterlere göre *Pasteurella multocida* türünün identifikasyonuna gidildi (11).

Tablo 1. *Pasteurella multocida* türünün identifikasyon kriterleri

Biyokimyasal Özellikler	<i>P. multocida</i>
Gram boyama	negatif
Hemoliz	negatif
İndol	pozitif
Üreaz	negatif
Nitrat	pozitif
Oksidaz	pozitif
Mac Conkey üreme	negatif

Koyun kanlı agarda 24– 48 saat inkübasyon sonucu üreyen kolonilerin hemoliz özellikleri incelendi. Gram negatif üreyen bakterilerin kolonileri; *P. multocida* ve diğer gram negatif bakterilerin identifikasyonu yönünden, kanlı agarda saf kültürleri hazırlanıp, Lassen'in üçlü besiyerine geçildi. *Pasteurella spp.* şüpheli koloniler, oksidaz, nitrat redüksiyonu, indol oluşumu, üreaz aktivitesi ve Mac Conkey agarda üreme durumlarına göre identifikasyona gidildi. Klasik yöntemler ile *Pasteurella multocida* olarak identifiye edilen bakteriler, Vitek II cihazı gram negatif identifikasyon kiti ile bakıldı.

İzole Edilen *P. multocida* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Testi: *P. multocida* izolatlarının gecelik subkültürlerinden alınan koloniler 0.5 Mc Farland bulanıklığına eşit olacak şekilde serum fizyolojik içerisinde hazırlandı. Besi yeri olarak Müller-Hinton agar kullanıldı. Bakteri inokulumları steril plastik özelerle 0.0312 – 256 mg/L antibiyotik içeren agar plaklarına ekildi. Her antibiyotik için antibiyotik içermeyen kontrol agar plağı hazırlandı. Plaklar 35 °C'de 24 saat inkübe edildi. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) gözle görülür üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık sınırları NCCLS (32) M100-S13'e göre okundu. İzolatların % 50'sini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK50, % 90'nı inhibe eden en düşük konsantrasyon ise MİK90 olarak tanımlandı. Kontrol suşu olarak standart *P. multocida* suşları kullanıldı.

İzole Edilen *P. multocida* Suşlarının Kapsüller Özelliklerine Göre Serotiplendirilmesi: Standart serotiplerden antijen hazırlanması, standart serotiplerden hiperimmun antiserum hazırlanması, saha suşlarından antijen hazırlanması, rapid slayt aglütinasyon (RSA) ve agar gel immundiffusion (AGID) teknikleri ile saha suşlarının serotiplendirilmesi işlemleri, Office International des Epizootics (OIE) 2000'de tanımlanan metotlara göre yapıldı (33).

BULGULAR

İzmir ve Aydın illerinden alınan 570 adet örneğin 28 (% 4.9)'ünden *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapıldı. İzmir ilinden alınan 350 örnekten 18 adet (% 5.14) ve Aydın ilinden alınan 220 örnekten 10 adet (% 4.54) *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapıldı.

Yapılan çalışmada 28 adet saha suşunun 15 (% 53.6)'i tip B, 10 (% 35.7)'u tip A ve 1 (% 3.5)'i de

Tablo 2. Araştırmada kullanılan antibiyotiklerin MİK değerleri ve duyarlılıkları

Antibiyotik	MİK mg/L			
	Aralık	MİK 50	MİK 90	Duyarlılık (%)
Florfenikol	0.0312 – 64	0.25	0.5	93
Oksitetrasiklin	1 – 256	4	32	54
Enrofloksasin	0.125 – 8	1	4	61
Amoksisilin - Klavulanik Asid	0.25 – 4	4	4	39
Sulfametaksazol-Trimetoprim	0.25 – 128	4	16	18
Gentamisin	2 – 256	8	16	36
Eritromisin	0.25 – 16	4	16	18

tip D olarak tespit edildi. İzolatlardan 2 (% 7.2)'si ise tiplendirilemedi.

Çalışmada, izole edilen 28 adet *P. multocida* suşunun MİK değerleri tespit edildi. Uygulanan test sonucunda *P. multocida* suşlarının % 93 oranında florfenikol'e, % 61 oranında enrofloksasin'e, % 54 oranında oksitetrasiklin'e duyarlı olduğu bulundu. *P. multocida* suşlarının tümünün eritromisin ve sulfametaksazol-trimetoprim'e % 82 oranlarında, gentamisin'e % 64 oranında ve amoksisilin-klavulanik asid'e ise % 61 oranında dirençli olduğu tespit edildi. Yapılan antibiyogramlar sonucunda oksitetrasiklin, amoksisilin-klavulanik asid, eritromisin ve sulfametaksazol-trimetoprim MİK 50 değerlerinin 4 mg/L olduğu görüldü. Bununla beraber eritromisin, gentamisin ve sulfametaksazol-trimetoprim'in MİK 90 değerlerinin 16 mg/L olduğu tespit edildi. Araştırmada kullanılan antibiyotiklerin MİK değerleri Tablo 2'de gösterilmektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sığırlarda görülen solunum sistemi hastalıkları tüm dünyada sığır yetiştiriciliğinde önemli kayıplara yol açmaktadır. Sığırların karşı karşıya kaldıkları çevre koşulları, beslenme şartları ve çeşitli stres faktörleri solunum sistemi hastalıklarının oluşmasında önemli rol oynamaktadır (17, 44).

Sığır pnömonilerinin yayılışı genel olarak ülkeler ve bölgeler arasında farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar coğrafi şartlara, hayvanların yaşına, cinsiyetine, ırklarına, bireysel dirençlerine, beslenme durumuna ve buldukları yerin hijyenik şartlarının farklılığına bağlıdır. Pnömoni oranını % 65.83'lere kadar bildiren araştırmacılar (23) olmakla birlikte, çok sayıda materyal kullanılarak yapılan çalışmalarda (2, 34, 35, 39) bu oranın % 5

ile 9.5 arasında değiştiği dikkati çekmektedir. Oranın yüksek (% 40) çıktığı çalışmada materyal sayısı genellikle düşük olup, araştırmalar sadece belirli sayıda hayvan popülasyonu üzerinde gerçekleştirilmiştir (10, 23, 41). Ayrıca bu sınırlı sayıda gruplarda, hayvanların genel olarak sağlıklı olması veya bulaşıcı bir hastalık etkisi altında bulunması gibi nedenlerle de oran olduğundan daha düşük ya da daha yüksek çıkabilir. Genel olarak pazarlama ve yetiştirmede kullanılan metotlar da hastalığın şiddetine katkıda bulunabilir ve hayvanları hastalığa karşı duyarlı hale getirebilir. Yine pnömonilerin sıkça görüldüğü İngiltere, Kuzey Amerika, Kanada gibi ülkelerde iklimin hastalıkta önemli rol oynadığı ve özellikle pnömoni oranının yüksek oranda bulunduğu İngiltere gibi ılıman ve nemli iklime sahip ülkelerde ruminantların önemli bir problemi olarak kendini göstermektedir (8).

Sığırlarda pnömoni oranının aylara ve mevsimlere göre dağılımını belirlemek amacıyla yapılan bir epidemiyolojik çalışmada pnömoni oranı yaz döneminde % 16.0, yağışlı aylarda % 21.7 ve kış döneminde de % 23.0 olarak tespit edilmiştir (29). Aynı çalışmada en yüksek oranın (% 27.7) Kasım ayında ve en düşük oranın (% 13.9) da Haziran ayında olduğu tespit edilmiş ve pnömoni oranının ortalama olarak % 20.1 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışma sığırlarda pnömoni oranının mevsimlere göre önemli ölçüde değişebileceğini ve kış aylarında daha yüksek bir oran ile seyrettiğini saptamıştır.

Haziroğlu ve ark (24), 1995 Mart ile 1996 Haziran ayları arasında pnömoni lezyonu görülen 100 adet buzağı üzerinde yürüttükleri bir çalışmada lezyonlu akciğerlerden 42'sinde *P. haemolytica*, 8'inde *P. multocida* ve 10 adedinde de *H. somnus* bakteriyel etkenlerini, vakaların 7'sinde hem *P. haemolytica* hem de *H. somnus*'u, 2'sinde ise

hem *P. haemolytica* hem de *P. multocida*'yı izole etmişlerdir. Diğer bir araştırmada pnömonili sığırların akciğerlerinden % 6 oranında *P. multocida* izole edildiği bildirilmiştir (26). Allan ve ark (4)'nın yapmış oldukları bir çalışmada % 15.8 *P. multocida* izole edildiği bildirilmektedir. Erzurum'da ise pnömonili sığır akciğerlerinden % 4.5 oranında *P. multocida* izole edilmiştir (15). Gündüz ve Erganiş, Konya'da yaptıkları bir araştırmada *P. multocida* izolasyon oranının % 15.9 olduğunu tespit etmişlerdir (22). Elazığ'da yapılan diğer bir çalışmada sığır akciğerlerinden bakteri izolasyonlarında % 6 oranında *P. multocida* izolasyonu yapılmıştır (28).

Araştırmamızda İzmir ilinden alınan 350 örnekten 18 adet (% 5.14) ve Aydın ilinden alınan 220 örnekten 10 adet (% 4.54) *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır. Toplam identifikasyon sayısı ise 570 örnekte 28 (% 4.9) olarak tespit edilmiştir. Bu oranlar ülkemizin diğer bölgelerinde yapılan araştırmalar ile paralellik göstermektedir (24, 15, 28). Araştırma sonuçlarının Konya (22) bölgesinde yapılan araştırma ile paralellik göstermemesi ise Konya'daki iklim koşullarının özellikle *P. multocida* için Aydın ve İzmir illerindeki iklim koşullarına nazaran daha uygun olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Batu ve Elverdi (6) yaptıkları araştırmada, Sakarya, Samsun, Çarşamba, Bafra ve Terme mezbahalarında kesilen sığır mandaların nasopharyngeal boşluklarından aldıkları 1106 svap örneğinde, *Pasteurella multocida* serotiplerini incelemişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre 1106 örnekten 28 (% 2.53) adet *P. multocida* identifikasyonu yapılmış ve bunlardan 24'ü yapılan AGID testi sonucunda serogrup B olarak tespit edilmiştir.

Prudy ve ark (37) tarafından ABD'de yapılan bir araştırmada 50 adet *P. multocida* identifikasyonu yapılmış ve bunların 42 adedi serotip A olarak belirlenmiş, 8 adedi ise tiplendirilememiştir. Al-Humam ve ark (3) Suudi Arabistan'da yaptıkları bir çalışmada 400 adet örnek sığır akciğer svap örneğinden 10 adet *P. multocida* identifiye etmişler ve bununda 4 adedini tip A, 2 adedini tip C, 2 adedini tip E olarak tiplendirmişler, diğer 2 adedini ise tiplendirememişlerdir. De Rosa ve ark (14) ise sığır solunum yollarından 4 adet *P. multocida* identifiye etmişler ve bunların 3 adedini serotip A olarak tespit etmişler, bir adedini ise tiplendirememişlerdir.

Aydın ve İzmir illerinde yapılan araştırmamızda toplam 28 adet *P. multocida* izolatu kulla-

nılmış olup, bunlardan 15 (% 53.6) adedi serotip B, 10 (% 35.7) adedi serotip A ve bir (% 3.5) adedi de serotip D olarak tiplendirilmiştir. Suşlardan 2 (% 7.2)'si ise tiplendirilememiştir.

De Rosa ve ark. (14) ABD'de yaptıkları bir çalışmada *P. multocida* izolatlarının 7 çeşit antibiyotiğe (ampisilin, seftiofur, eritromisin, spectinomisin, trimetoprim-sulfametoksazol ve florfenicol) karşı MİK değerlerini tespit etmişler ve spectinomisin haricindeki diğer antibiyotiklerde düşük MİK değerleri ile karşılaşmışlardır. *P. multocida* izolatlarının seftiofur'a duyarlı olduğu bildirilmektedir.

Biswas ve ark (7), Hemorajik septisemi ile ilgili Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada sahadan izole ettikleri *P. multocida* izolatlarını sulfadiazin'e karşı dirençli bulmuşlardır. Çalışmada kullanılan diğer antibiyotikler ise mikroorganizmaya vermiş oldukları duyarlılık sırasına göre amikasin, gentamisin, siprofloksasin, eritromisin, streptomisin, nitrofurantoin, oksitetrasiklin ve enrofloksasin olarak sıralanmaktadır.

Wallmann (42), yapmış olduğu araştırmada çeşitli patojen bakterilerin antibiyotik direçliliklerini MİK değerleri yardımı ile tespit etmiştir. Araştırma sonuçlarına göre sığırlardan elde edilen *P. multocida* izolatları nalidiksik asid'e (% 10.6), enrofloksasin'e (% 1.5), sefoperazon'a (% 3), sefotaksim'e (% 6.8) ve seftiofur'a (% 1.5) oranında dirençli bulunmuştur. Wallmann, bu araştırma sonucunda Almanya'da yaklaşık olarak 15 yıl kadar sonra Veteriner alanda florokuinolon ve sefalosporon'lara karşı patojen bakterilerin dirençlilik geliştirebileceği görüşünü savunmaktadır.

Grobbel ve ark. (19) sığır ve domuzlardan elde edilen *P. multocida* izolatları ile Veteriner fluorokuinolon'lar arasında MİK değerlerini hesaplayarak bir karşılaştırmada bulunmuşlar ve sonuç olarak enrofloksasin ve onun bir metaboliti olan siprofloksasin'in yüksek in vitro antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Araştırmamızda 28 adet *P. multocida* suşunun % 93.0 oranında florfenikol'e, % 61.0 oranında enrofloksasin'e, % 54.0 oranında oksitetrasiklin'e duyarlı olduğu bulundu. *P. multocida* suşlarının tümünün eritromisin ve sulfametoksazol-trimetoprim'e % 82.0 oranlarında, gentamisin'e % 64.0 oranında ve amoksisillin-klavulanik asid'e ise % 61.0 oranında dirençli olduğu tespit edildi. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda *P. multocida* suşlarının enrofloksasin ve oksitetrasiklin'e direnç kazanma-

ya başladığı ve hatta yaklaşık % 45–50 arasında dirençli olduğu görülmektedir. Ayrıca Florfenikol'ün MİK 50 değerinin 0.25 mg/L ve MİK 90 değerinin 0.5 mg/L olması önem arz etmektedir.

Sonuç olarak Aydın ve İzmir illerinden toplanan 570 örneğin 28 (% 4.9)'ünden *P. multocida* izole ve identifiye edilmiştir. Bu 28 adet *P. multocida* suşunun 15'i serotip B, 10'u serotip A ve 1'i serotip D olarak tiplendirilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda sığır pnömonilerinde *P. multocida* suşlarının da önemli bir rol oynadığı bir kez daha doğrulanmıştır. Tespit edilen *P. multocida* serotip B'ye, diğer serotiplere göre daha yüksek oranda rastlanılmış olması, serotip B'nin daha yüksek patojenite kriterlerine sahip olabileceğini ispatlamaktadır. Ayrıca bu serotipin belirlenmesi halen uygulanmakta olan veya ileride hazırlanacak aşılar ciddi oranda katkı sağlayacaktır. Yapılan antibiyogramlar sonucunda ise *P. multocida* suşlarının florokuinolon grubunda bulunan antibiyotiklere (eritromisin, siprofloksasin vb.) karşı yoğun bir şekilde direnç kazandığı görülmektedir. Yeni bir etken madde olan florfenikol ise veteriner sahada tedavide kullanılacak bir antibiyotik olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu antibiyotiğin de bilinçsiz bir şekilde kullanılması sonucunda *P. multocida* izolatlarının direnç geliştirmesi kaçınılmaz bir sonuç olacaktır. Bundan dolayı, sığır pnömonilerini tedavi etmeye çalışmaktansa bu hastalıktan korunmak için aşı araştırmalarına ağırlık verilmesi ve yeni kombine aşıların üretilip uygulanmasının ülkemiz ekonomisi açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Akgül, Y., Tanrıtanır, P., İçen, H. (1995) *Bronkopnömonili buzağuların sağaltımında farklı Tilmicosin dozlarının etkisi*. Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Derg., 1: 12-20.
2. Alexander, B.H., Mac Vean, D.W., Rutter, J.M. (1989) *Risk factors for lower respiratory tract disease in a cohort of feedlot cattle*. JAVMA, 195 (2): 207-211.
3. Al-Humam, N.A., Al-Dughaym, A.M., Mohammed, G.E., Housawi, F.M., Gameel, A.A. (2004) *Study on the isolation and pathogenicity of Pasteurella multocida Type A in calves in Suudi Arabia*. Pakistan J. Biol. Sci., 7 (4): 460-463.
4. Allan, E.M., Wiseman, A., Gibbs, H.A., Selman, I.E. (1985) *Pasteurella species isolated from the bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns*. Vet. Rec., 117: 629-631.
5. Aslan, V., Maden, M., Hadimli, H.H. (1998) *Dana enzootik pnömonilerinin etiyojisi ve Penisilin + Streptomisin kombinasyonu ile tedavisi*. Bültendif, Sayı: 11: 4-7.
6. Batu, A., Elverdi, R. (1970) *Türkiye'de sığır ve mandalardan izole edilen Pasteurella serotiplerinin tayini*. Pendik Vet. Mik. Derg., I (II): 50-60.
7. Biswas, A., Shivachandra, S.B., Saxena, M.K., Kumar, A.A., Singh, V.P., Srivastava, S.K. (2004) *Molecular variability among strains of Pasteurella multocida isolats from an outbreak of hemorrhagic septicaemia in India*. Vet. Res. Comm., 28: 287-298.
8. Bowland, S.L., Shewen, P.E. (2000) *Bovine respiratory disease: commercial vaccines currently available in Canada*. Can. Vet. J., 41: 33-48.
9. Boyce, J.D., Adler, B. (2000) *The capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of Pasteurella multocida M1404 (B:2)*. Infect. Immun., 68 (6): 3463-3468.
10. Caldow, G.L., Edwards, S., Nixon, P., Peters, A.R. (1988) *Associations between viral infection and respiratory disease in young beef bulls*. Vet. Rec., 122: 529-531.
11. Carter, G.R., De Alwis, M. C.L. (1989) *Haemorrhagic septicaemia* pp.131-160. In: Adlam C.F., Rutter, J.M. (Eds): *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press Inc., NewYork.
12. Catry, B., Laevens, H., Devriese, L.A., Opsomer, G., Kruif, A. (2003) *Antimicrobial resistance in livestock*. J. Vet. Pharmacol. Therap., 26: 81-93.
13. Chanter, N., Rutter, J.M. (1989) *Pasteurellosis in pigs and the determinants of virulence of toxigenic P. multocida*. pp:161-169. In: Adlam C. F., Rutter J. M. (Eds): *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press Inc., NewYork.
14. De Rosa, D. C., Mechor, G. D., Staats, J.J., Chengappa, M.M., Shryock, T.R. (2000) *Comparison of Pasteurella spp. simultaneously isolated from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of Bovine Respiratory Disease*, J. Clin. Microbiol., 38: 327-332.
15. Dinler, U. (1998) *Pnömonili sığır akciğerlerinden Pasteurella multocida'nın izolasyonu ve identifikasyonu*. Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
16. Dyer, R. M. (1982) *The bovine respiratory disease complex. A complex interaction of host, environment and infectious factors*. Comp. Cont. Educ., 4: 296-304.

17. **Frank, G.H.** (1986) *The role of Pasteurella haemolytica in the bovine respiratory disease complex.* Vet. Med., 12: 841-846.
18. **Gilmour, N.J.L., Gilmour, J.S.** (1989) *Pasteurellosis of sheep.* pp: 223-262. In: Adlam C. F., Rutter J. M. (Eds): Pasteurella and Pasteurellosis. Academic Press Inc., NewYork.
19. **Grobbe, M., Lübke-Becker, A., Wieler, L.H., Froyman, R., Friederichs, S., Filios S.** (2007) *Comparative quantification of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones.* J. Vet. Microbiol., 124 (1-2): 73-81.
20. **Gruenau, H.** (1992) *Experiences with Tilmicosin in treatment of enzootic broncopneumonia in farms with beef cattle.* Pract. Tieraerztle, 10: 1-2.
21. **Gül, Y., Dabak, M., Kalander, H., Kızıl, Ö., Issi, M.** (1999) *Enzootik pnömonili dana ve kuzularda Amoksisilin ile tedavi denemeleri.* Bültendif, Sayı: 12: 12-15.
22. **Gündüz, K., Erganiş, O.** (1998) *Pnömonili sığır akciğerlerinden izole edilen Pasteurella haemolytica suşlarının biyotiplendirilmesi ve serotiplendirilmesi.* Veterinarium, 9 (1): 11-19.
23. **Haritani, M., Nakazawa, M., Hashimoto, K., Narita, M., Tagawa, I., Nakagawa M.** (1990) *İmmunoperoxidase evaluation of the relationship between necrotic lesions and causative bacteria in lungs of calves with naturally acquired pneumonia.* Am. J. Vet. Res., 51 (12): 1975-1979.
24. **Hazıroğlu, R., Erdeğer, J., Gülbahar, M.Y., Kul O.** (1997) *Association of Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida and Haemophilus somnus with pneumonia in calves.* Dtsch. Tierarztl Wschr., 104: 125-164.
25. **Highlander, S.K.** (2001) *Molecular genetic analysis of virulence in Mannheimia (Pasteurella) haemolytica.* Front. Biosci., 6: 1128-1150.
26. **Houghton, S.B., Gourlay, R.N.** (1984) *Bacteria associated with calf pneumonia and their effect on gnotobiotic calves.* Res. Vet. Sci., 37: 194-198.
27. **Howard, J.L.** (1986) *Current Veterinary Therapy 2. Food Animal Practice.* W.B. Saunders Company, Philadelphia.
28. **Kılıç, A., Muz, A.** (2004) *Pnömonili sığır akciğerlerinden bakteri izolasyonları ve izole Pasteurella'ların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Saptanması.* Turk. J. Vet. Anim. Sci., 28: 217-223.
29. **Maity, B., Deb, P.** (1991) *Seasonal variation in incidence of pneumonia in cattle.* Indian J. Anim. Sci., 61 (3): 261-262.
30. **Manning, P.J., Digiacoma, R.F., DeLong, D.** (1989) *Pasteurellosis in laboratory animals.* pp: 263-302. In: Adlam C. F., Rutter J. M. (Eds): Pasteurella and Pasteurellosis. Academic Press Inc., NewYork.
31. **Mutter, R., Mannheim, W., Bisgaard M.** (1989) *Taxonomy of the group.* pp:3-34. In: Adlam C. F., Rutter J. M. (Eds): Pasteurella and Pasteurellosis. Academic Press Inc., New York.
32. **National Committee for Clinical Laboratory Standards** (2003) *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - Sixth Edition: Approved Standard M7-A6.* NCCLS PA, SA.
33. **Office International Des Epizooties (OIE)** (2000) *Haemorrhagic Septicemia.* Chapter 2.3.12. pp: 446-456. In: Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. 4th Edition, OIE, Paris.
34. **Özer, H.** (1985) *Besi danalarında exudative pnömonilerin yayılışı.* Elazığ Bölgesi Vet. Hek. Odası Derg., 1 (3): 63-70.
35. **Özer, H.** (1987) *Besi sığırlarında atipik interstitial pnömonilerin yayılışı.* Fırat Üniv. Sağ. Bil. Derg., 1 (1-A): 27-34.
36. **Picavet, T., Muylie, E., Devriese, L.A., Gerly, J.** (1991) *Efficacy of Tilmicosin in treatment of pulmonary infections in calves.* Vet. Rec., 125: 400-403.
37. **Prudy, W.C., Raleigh, H.R., Collins, K.J., Watts, D.J., Straus, C.D.** (1997) *Serotyping and enzyme characterization of Pasteurella haemolytica and Pasteurella multocida isolates recovered from pneumonic lungs of stressed feeder calves.* Current Microbiol., 34: 224-249.
38. **Radostis, O.M., Blood, D.C., Gay, C.C.** (1994) *Veterinary Medicine. A Textbook of Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses.* pp: 590-603. Bailliere, Tindall, London.
39. **Rosequist, R.B., Dobson, A.W.** (1974) *Multiple viral infection in calves with acute bovine respiratory tract disease.* Am. J. Vet. Res., 35 (3): 363-365.
40. **Seleim, R.S.** (2005) *Review: Major Pathogenic Components of Pasteurella multocida and Mannheimia (Pasteurella) haemolytica Isolated From Animal Origin.* <http://www.priory.com/vet/pasteurella.htm> Erişim tarihi: 18.10.2006.
41. **Thomas, L.H., Swann, R.G.** (1973) *Influence of colostrum on the incidence of calf pneumonia.* Vet. Rec., 92: 454-455.
42. **Wallmann, J.** (2006) *Monitoring of antimicrobial resistance in pathogenic bacteria from livestock animals.* Int. J. Med. Microbiol., 296 (2): 81-86.

43. **Whiteley, L.O., Maheswaran S.K., Weiss D.J., Ames, T.R., Kannan, M.S.** (1992) *Pasteurella haemolytica A1 and bovine respiratory disease pathogenesis*. J. Vet. Int. Med., 6 (1): 11-12.
44. **Yates, W.D.G.** (1982) *A review of infectious ovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle*. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci., 46: 225-263.

Yazışma Adresi:

Dr. Göksel ERBAŞ

Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü,

Veteriner Biyolojik rnler Kontrol Bölümü,

35010 Bornova/İZMİR

e-mail:g_erbasa@yahoo.com

İNFEKSİYÖZ PANKREATİK NEKROZİS HASTALIĞININ TEŞHİSİ İÇİN ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY GELİŞTİRİLMESİ*

DEVELOPMENT OF ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY METHOD FOR DIAGNOSIS OF INFECTIOUS PANCREATIC NECROSIS DISEASE

Buket ÖZKAN ÖZYER¹

Haşmet ÇAĞIRGAN²

Geliş Tarihi (Received): 21.07.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 02.09.2008

ÖZET

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis (İPN), genç salmonid balıklarda yüksek mortalite ile seyreden ve önemli ekonomik kayıplara neden olan akut bulaşıcı viral bir hastalıktır. Bu çalışmada hastalığın teşhisinde standart bir metot olan enzim-linked immunosorbent assay (ELİSA) geliştirilmesi ve İPN hastalığının teşhisi için kullanılması amaçlanmıştır.

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virusunun (İPNV) teşhisi hücre kültüründe izolasyonu takiben serolojik tekniklerle identifikasyon ile yapılmaktadır. Bunun için İPNV'unun VR-299, Ab ve Sp serotipleri pürifiye edilmiş ve bu serotiplere karşı tavşan ve kobaydan hiperimmün serum elde edilmiş ve bu antikolarlar testte kullanılmıştır.

Testin spesifitesini belirlemek için salmonid balıklarda hastalığa neden olan diğer viruslardan infeksiyöz hematopoetik nekrozis virus (İHNV) ve viral hemorajik septisemi virusu (VHSV) kullanılmış ve çapraz reaksiyon görülmemiştir. Testin sensitivitesi VR-299 serotipi için DKİD₅₀ değeri 10^{6,6}/ml, Ab serotipi için DKİD₅₀ değeri 10^{6,8}/ml ve Sp serotipi için DKİD₅₀ değeri 10^{7,3}/ml olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak İPN hastalığının teşhisi için geliştirilen ELİSA yönteminin hızlı, basit ve ekonomik bir yöntem olarak kullanılabilieceği düşüncesine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: ELİSA, İPN, salmonid balıklar, teşhis, viral balık hastalıkları,

SUMMARY

Infectious pancreatic necrosis (IPN) is an acute contagious disease and causes high mortality and significant economic losses in young salmonid fish. In this study, ELISA that is used as a standart method was developed to be used for diagnosis of IPN.

The diagnosis of IPN virus is made by virus isolation followed by serological identification technics. For this purpose VR 299, Ab and Sp serotypes of infectious pancreatic necrosis virus was purified and then hiperimmün sera were produced in rabbit and guinea pigs against these serotypes. Finally these antibodies were used in the test.

Other viruses like infectious hematopoietic necrosis virus and viral hemorrhagic septisemia virus that cause diseases in salmonid fish were used to determine the specificity of the test and cross reaction was not seen. Sensitivity of the test was found to be 10^{6,6}/ml, 10^{6,8}/ml, and 10^{7,3}/ml TCID₅₀ for Vr 299, Ab and Sp respectively.

As a result, development of ELISA method was considered to be simple, rapid, and economic method to be used for diagnosis of infectious pancreatic necrosis disease.

Key Words: Diagnosis, ELISA, IPN, salmonid fish, viral fish disease.

GİRİŞ

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis (İPN) hastalığı özellikle genç salmonid balıklarda yüksek mortalite ile seyreden önemli ekonomik kayıplara neden olan akut seyirli bulaşıcı viral bir hastalıktır (12,

36, 39). İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virus salmonid balıkların yanısıra 20 den fazla balık türünden, yumuşakçalardan, kabuklulardan ve diğer omurgasızlardan da izole edilmiştir (1, 13, 19, 35). Hastalık ilk olarak Kanada' da 1940 yılında M'Gonigle tarafından tanımlanmıştır (38).

* Buket ÖZKAN ÖZYER' in doktora tezinden özetlenmiştir

1 Dr., Veteriner Hekim, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Viroloji Bölümü, İZMİR

2 Prof. Dr., Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Hastalıklar Anabilim Dalı, Bornova, İZMİR

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis hastalığı yurdu-muzda ilk kez Candan (6) tarafından bildirilmiştir.

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virus, Birnaviridae familyasında Aquabirnavirus genusunda yer almaktadır (12, 26). Virus 55-75 nm çapında, ikozahedral simetrik, zarfsız, iki segmentli ve çift iplikçikli RNA ya sahiptir (33, 39). İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virusuna spesifik 5 viral polipeptid bulunmaktadır (11, 27).

Aquabirnavirus genusunda serolojik olarak 2 serogrup tanımlanmıştır. Serogrup A da yer alan izolatların çoğu salmonid balıklarında ki hastalıklarla ilişkilidir ve 9 serotip halinde gruplandırılmıştır. Serogrup B sadece 1 serotipe (B1) sahiptir. İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virusunun VR-299 (WB), Sp ve Ab olmak üzere başlıca 3 ana serotipi vardır ve bu serotiplerden Sp ve Ab serotipinin Avrupa orjinli, VR-299 serotipinin ise Amerika orjinlidir (18, 24, 25, 28). Genetik olarak ise 7 farklı grubun olduğu bildirilmektedir (23).

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virusunun identifikasyonu hücre kültüründe izolasyonu takiben immunolojik testler ile yapılmaktadır (3, 30, 34, 38). Klinik vakalarda teşhis direkt balık dokularında histolojik olarak ve/veya İPNV antijeninin immunolojik olarak gösterilmesi ile yapılabilmektedir (14). Ancak teşhis konfirmasyonu için hücre kültüründe izolasyon ve immunolojik olarak identifikasyon gerekmektedir. Standart olarak kullanılan immunolojik testler nötralizasyon testi, indirekt floresan antikor testi (IFAT) ve ELİSA'dır (4).

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis gibi önemli bir balık hastalığının teşhisi ve rutin tarama çalışmalarında ELİSA'nın kullanılması maliyet, iş gücü ve zaman açısından büyük avantajlar sağlayacaktır. Bu çalışmada doku kültüründe izole edilen İPNV'unun teşhisinde kullanılabilecek bir ELİSA yönteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Hücre Kültürü: Referans virusların çoğaltılması amacıyla epithelioma papulosum cyprini (EPC) ve bluegill fry (BF-2) hücre hatları kullanıldı. Bu amaçla % 10 fetal dana serum (FCS-Biochrom, Almanya) %1 antibiyotik-antimikotik (10000 IU/ml penicilline, 10 mg/ml streptomisin, 0,025 mg/ml amphotericin B, Biological Industries, İsrail) ve %1 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES-Biochrom, Almanya) bulunan Eagle's Minimal Essential Medium (EMEM, pH 7.6- Biochrom, Almanya) kullanılarak 24 °C'de hücreler hazırlandı.

Referans Viruslar: Hiperimmun serum elde edilmesi, ELİSA'nın sensitivite ve spesifitesinin belirlenmesi için referans viruslar kullanıldı. Bu amaçla; İPNV Spjarup serotipi (Sp, Danish Institute for Food and Veterinary Research, Danimarka), İPNV VR-299 serotipi (İPN436, Institute of Diagnostic Virology, Almanya), İPNV Abild serotipi (Ab, İPN428, Institute of Diagnostic Virology, Almanya), viral hemorajik septisemi virus (VHSV, DK5151, Danish Institute for Food and Veterinary Research, Danimarka) ve infeksiyöz hematopietik nekrozis virus (İHNV izolat 32/87, Danish Institute for Food and Veterinary Research, Danimarka) kullanıldı. Testte kullanılan İPNV (VR-299, Ab ve Sp serotipi) BF-2 hücre kültürlerinde, VHSV ve İHNV'u EPC hücre kültüründe üretildi. Viruslar hücre kültürlerinde % 2 FCS, % 1 antibiyotik-antimikotik ve %1 hepes içeren EMEM kullanılarak 15°C'de üretildi.

İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Virusunun Pürifikasyonu: Pürifikasyon işlemi Dixon ve Hill (8), tarafından bildirilen yöntemle yapıldı. Viruslar 175 cm² yüzeyli doku kültürü flasklarına 1:10 oranında inokule edildi. İnkubasyon süresince % 90-95 oranında sitopatolojik efekt (CPE) gözlenen hücreler -74°C'ye kaldırılarak donduruldu ve hızla çözdürüldükten sonra virus süspansiyonu 1500xg de 15 dakika santifüj edildi. Süpernatant toplandı. % 2.2 NaCl (w/v) ve % 7 PEG-6000 (Merck, Almanya) (w/v) ilave edilerek 4° C'de manyetik karıştırıcıda bir gece bırakıldı. Hücre peletleri TNE buffer (0,01M Tris-HCl, 0,1M NaCl, 0,001M EDTA, pH, 7.4) ile süspansiyon edildi. Süspansiyon eşit miktarda 1,1,2 trichlorotrifluoraethane (Uvasol, Merck, Almanya) ile karıştırıldı ve 1500xg'de 10 dakika santrifüj edildi ve üstteki sıvı faz alındı. Aynı işlem bir kez daha tekrar edildi. PEG 6000 ile muamele edilen süpernatant 2000xg'de 1 saat santrifüj edildi ve elde edilen pellet TNE buffer ile resüspanse edildi. Süspansiyon 1,1,2 trichlorotrifluoraethane ile tekrar muamele edildi. Ayrılan üstteki sıvı faza TNE buffer ile hazırlanmış olan % 15-45 sukroz dansiti gradient uygulandı ve Beckman Optima-LE-80K ultrasantrifüjde SW 41 rotor kullanılarak 45000xg'de 2 saat santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan virus bantları bir enjektör ile toplandı. TNE buffer ile dilue edilen virus içeren band 126000xg'de 6°C 1.5 saat santrifüj edildi (SW 41 rotor). Oluşan pelet 1 ml TNE ile resüspanse edilerek protein konsantrasyonu spektrofotometre ile ölçüldü.

Antiserumları Hazırlanması: Antiserum elde edilmesinde Hattori ve ark. (16) tarafından bildirilen yöntem uygulandı. Her bir serotip için Yeni Zelanda tavşanı ve kobay kullanıldı. Tavşanlar, 200 µg/ml ve kobaylar 100 µg/ml konsantrasyonunda pürifiye edilen virus ile immunize edildi. Fosfat tampon solüsyonu (PBS) içinde hazırlanan pürifiye virus süspansiyonu eşit hacimde Freund's complete adjuvantı (FCA, Sigma A.B.D) ile emulsifiye edildi ve deri altı yolu ile verildi. Aynı şekilde 4 hafta sonra immunizasyon tekrarlandı. 7-10 gün sonra kan alınarak toplanan serumlar -20° C'de stoklandı. Antikorlar Adams (2) tarafından belirtilen yöntem kullanılarak sodyum sülfat ile pürifiye edildi.

ELİSA: Bu çalışma da indirekt çift antikor (sandviç) ELİSA kullanıldı. Mikroplak gözleri İPNV VR-299, Ab ve Sp serotiplerine karşı tavşanda hazırlanan IgG'ler ile 10 µg/ml olacak şekilde pH 9.6 olan karbonat-bikarbonat tampon solüsyonunda sulandırılarak her bir göze 100 µl konuldu ve 37°C'de bir gece bekletildi. Kaplamadan sonra PBS (pH: 7.4) ile 2 kez yıkandı. % 1.5 sığır serum albümini (BSA, AppliChem, Almanya) içeren karbonat bikarbonat tampon solüsyonu bloklama amacıyla her göze 200 µl konuldu. Mikroplak 37°C'de 1 saat inkübe edildi. PBS ile 3 kez yıkandı. Daha sonra antijen olarak İPN virus VR-299, Ab ve Sp içeren hücre kültürü sıvısından ve negatif kontrol antijeni olarak enfekte edilmemiş BF-2 hücre kültürü sıvısından 100'er µl ilave edildi. Mikroplaklar 24°C'de nemli ortamda bir saat inkübe edildi. % 0.05 Tween 20 ilave edilmiş PBS (PBS-T) ile 3 kez yıkandı. Sekonder antikor olarak İPNV VR-299, Ab ve Sp serotiplerine karşı kobay da hazırlanan antikorlar 10 µg/ml olan olacak şekilde % 1 BSA içeren PBS-T ile sulandırıldı ve her bir göze 100 µl ilave edildi. 24° C'de bir saat inkübe edildi. PBS-T ile 4 kez yıkandı. Konjugat olarak horse radish peroksidase (HRP) ile işaretli anti-kobay IgG konjugatı (Pirbright Lab., İngiltere) İPNV VR-299 ve Ab serotipi için 1/500, İPNV Sp serotipi için 1/250 olarak % 1 BSA içeren PBS-T ile sulandırıldı ve herbir göze 100'er µl konuldu 24° C'de nemli ortamda bir saat inkübe edildi. PBS-T ile 4 kez yıkandı. Substrat olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) ile aktive edilmiş OPD substrat (P-5412, Sigma) her bir göze 100 µl eklenerek oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra 1M sülfürik asit (H₂SO₄) 100 µl ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve ELİSA okuyucusunda (ELx800, Bio-Tek) 492 nm dalga boyunda okundu.

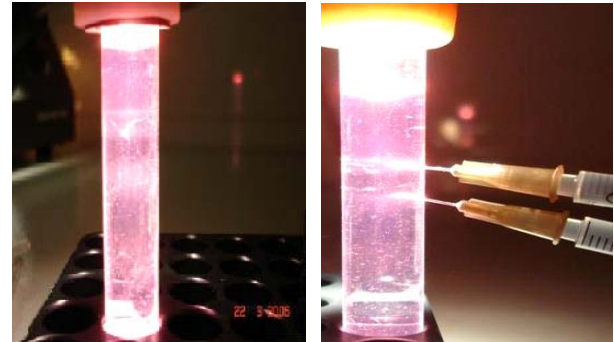
Testin Sensitivite ve Spesifitesinin Belirlenmesi: Testte kullanılan reaktifler ile gökkuşağı alabalıklarında enfeksiyonlara neden olabilen diğer viral etkenler arasında kros reaksiyonun olup olmadığını ortaya koymak amacıyla EPC hücre hatlarında üretilmiş olan VHSV ve İHNV kullanıldı.

Testin sensitivitesinin belirlenmesi amacıyla mikrotitrasyon ile Kaerber metoduna (5) göre DKID₅₀ değerleri belirlenen İPNV VR-299 (10^{8.6} DKID₅₀ /ml), Ab (10^{8.8} DKID₅₀ /ml) ve Sp (10^{8.3} DKID₅₀ /ml) serotipleri hücre kültürü sıvılarından direkt, 1/10, 1/100, 1/1000 dilüsyonlarda ve negatif kontrol antijeni olarak enfekte edilmemiş BF-2 hücre kültürü sıvısı; direkt, 1/10, 1/100, 1/1000 dilüsyonlarda 4'er göz olmak üzere test edildi.

Sonuçların Değerlendirilmesi: Uygulanan test sonuçlarında okunan OD değerlerinin pozitif olarak değerlendirilmesi için; pozitif antijenlerin ortalamaları ve negatif antijen ortalamaları ile elde edilen pozitif/negatif (P/N) oranlarının değerinin ≥2 olması ve bu değer negatif kontrol antijenlerinin istatistiki olarak 3 standart sapması (3SS) alınarak hesaplanan cut off değerinden (kritik değer) büyük olması esas alındı (21, 22, 32).

BULGULAR

Virusların Pürifikasyon Sonucu: Virusların pürifikasyonu amacıyla uygulanan % 15-45 sukroz gradient sonucunda oluşan opak bantlar toplandı (Şekil 1). Toplanan bantların protein konsantrasyonları spektrofotometrede ölçüldü. İPNV VR 299 serotipinin konsantrasyonu 1800 µg/2ml, İPNV Ab serotipinin konsantrasyonu 2200 µg/2ml ve İPNV Sp serotipinin konsantrasyonu 2000 µg/2ml olarak hesaplandı.



Şekil 1. İPNV pürifikasyonu için uygulanan % 15-45 sukroz gradient sonucu oluşan bantlar

Pürifiye Antikorların Protein Miktarları: Sodyum sülfat ile pürifiye edilen tavşan ve kobay antikorlarının protein konsantrasyonları Tablo 1'de belirtilmiştir.

ELİSA Sonuçları

İPNV VR-299 Serotipi İçin Sensitivite ve Spesifitesinin Belirlenmesi: İPNV VR-299 serotipinin sensitivitesinin belirlenmesi için uygulanan ELİSA sonuçları Tablo 2’de, sonuçların değerlendirilmesi Tablo 3 ve Grafik 1’de, spesifite ile ilgili test sonuçları Tablo 4’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tavşan ve kobaylardan elde edilen İPNV’una spesifik serumların sodyum sülfat ile pürifikasyonu sonucu elde edilen protein konsantrasyonları

İPNV serotipleri	Tavşan antikorunu (mg/ml)	Kobay antikorunu (mg/ml)
İPNV VR 299	5,1	3,4
İPNV Ab	2,1	1,7
İPNV Sp	5,5	3,6

Tablo 2. İPNV VR-299 serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçları

	492 nm de OD değerleri			
Direkt virus	0,749	0,761	0,737	0,745
Negatif kontrol	0,064	0,065	0,065	0,065
1/10 dilue virus	0,582	0,584	0,587	0,597
Negatif kontrol	0,065	0,067	0,064	0,064
1/100 dilue virus	0,179	0,191	0,183	0,205
Negatif kontrol	0,063	0,063	0,062	0,061
1/1000 dilue virus	0,073	0,076	0,077	0,075
Negatif kontrol	0,064	0,064	0,061	0,064
Blank	0,087	0,068	0,065	0,085

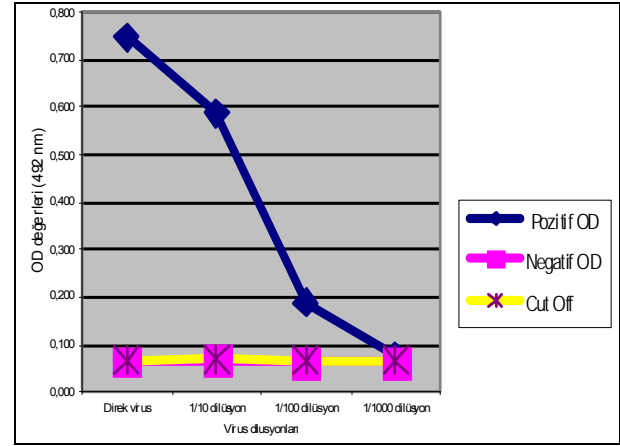
Tablo 3. İPNV VR-299 serotipi için uygulanan ELİSA sonuçlarının pozitif / negatif OD oranları ve cut off değerleri (492 nm)

	Pozitif ortalama (P)	Negatif ortalama (N)	P/N oranları	Cut off değeri (3SS)
Direkt	0,748	0,065	11,5	0,066
1/10 dilüsyon	0,588	0,065	9	0,069
1/100 dilüsyon	0,190	0,062	3,1	0,065
1/1000 dilüsyon	0,076	0,063	1,2	0,068

Sonuç olarak P/N oranlarının ≥ 2 olması ve negatif kontrol antijen değerlerinin 3SS değerinin (cut-off değeri) pozitif kontrol antijenin değerinden küçük olduğu tespit edilerek testin geçerli olduğu ve İPNV VR-299 serotipi için sensitivitenin DKID₅₀ değeri 10^{6,6}/ml olarak tespit edilmiştir.

İPNV Ab Serotipi için Sensitivitesi ve Spesifitesinin Belirlenmesi: İPNV Ab serotipinin sensitivitesinin belirlenmesi için uygulanan ELİSA sonuçları Tablo 5’de, sonuçların değerlendirilmesi Tablo 6 ve Grafik 2’de, spesifite ile ilgili test sonuçları Tablo 7’de gösterilmiştir.

Grafik 1. İPNV VR-299 serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçları



Tablo 4. İPNV VR-299 serotipi için uygulanan ELİSA spesifitesi ile ilgili çalışma sonucunda 492 nm’de okunan OD değerleri

Antijenler	OD değerleri	
İPNV-VR299	0,749	0,761
IHNV	0,083	0,078
VHSV	0,077	0,077
Negatif kontrol	0,064	0,065
Blank	0,068	0,065

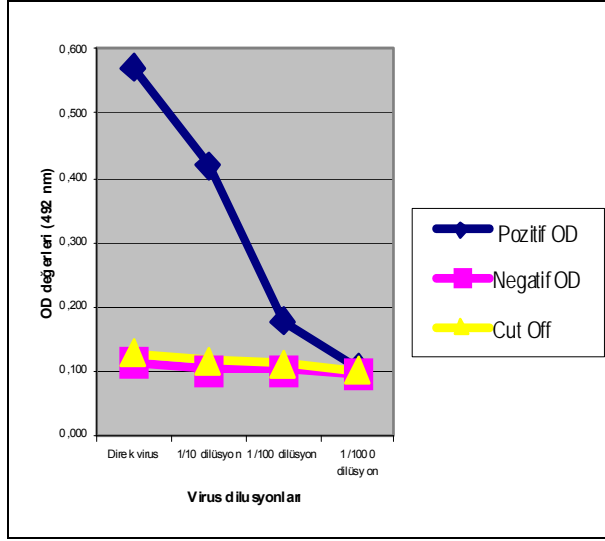
Tablo 5. İPNV Ab serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçları

	492 nm de OD değerleri			
Direkt virus	0,544	0,601	0,602	0,536
Negatif kontrol	0,119	0,116	0,110	0,118
1/10 dilue virus	0,385	0,378	0,437	0,480
Negatif kontrol	0,099	0,103	0,106	0,108
1/100 dilue virus	0,149	0,184	0,174	0,202
Negatif kontrol	0,102	0,102	0,102	0,108
1/1000 dilue virus	0,105	0,106	0,108	0,104
Negatif kontrol	0,097	0,099	0,098	0,096
Blank	0,105	0,108	0,100	0,100

Tablo 6. İPNV Ab serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçlarının pozitif / negatif OD oranları ve cut off değerleri (492 nm)

	Pozitif ortalama (P)	Negatif ortalama (N)	P/N oranları	Cut Off değeri (3SS)
Direkt	0,570	0,116	4,9	0,128
1/10 dilüsyon	0,420	0,104	4	0,116
1/100 dilüsyon	0,177	0,104	1,7	0,113
1/1000 dilüsyon	0,106	0,098	1,1	0,101

Grafik 2. İPNV Ab serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçları



Tablo 7. İPNV Ab serotipi için uygulanan ELİSA spesifitesi ile ilgili çalışma sonucunda 492 nm'de okunan OD değerleri

Antijenler	OD değerleri	
İPNV Ab	0,601	0,602
IHNV	0,132	0,133
VHSV	0,129	0,132
Negatif kontrol	0,136	0,133
Blank	0,142	0,147

Tablo 8. İPNV Sp serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçları

	492 nm de OD değerleri			
	1	2	3	4
Direkt virus	0,498	0,516	0,481	0,496
Negatif kontrol	0,085	0,086	0,086	0,086
1/10 dilüe virus	0,259	0,238	0,258	0,294
Negatif kontrol	0,090	0,087	0,086	0,089
1/100 dilüe virus	0,114	0,112	0,111	0,118
Negatif kontrol	0,097	0,090	0,088	0,089
1/1000 dilüe virus	0,096	0,095	0,095	0,093
Negatif kontrol	0,089	0,090	0,091	0,092
Blank	0,087	0,086	0,092	0,090

Sonuç olarak P/N oranlarının ≥ 2 olması ve negatif kontrol antijen değerlerinin 3SS değerinin (cut-off değeri) pozitif kontrol antijenin değerinden küçük olduğu tespit edilerek testin geçerli olduğu ve İPNV Ab serotipi için sensitivitenin DKID₅₀ değeri $10^{6,8}$ /ml olarak tespit edilmiştir.

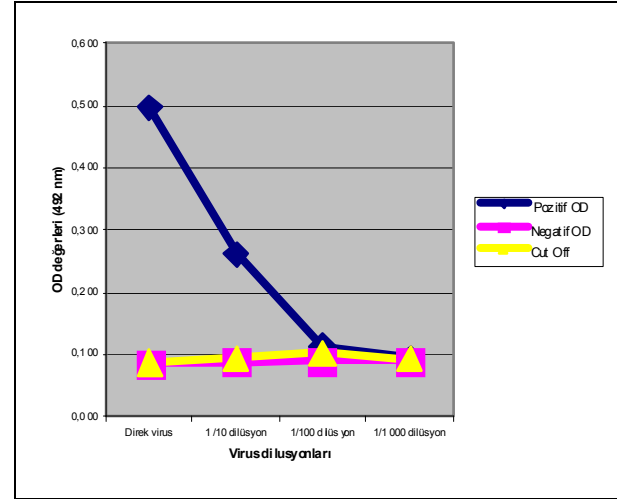
İPNV Sp Serotipi için Sensitivite ve Spesifitenin Belirlenmesi: İPNV Sp serotipinin sensitivitesinin belirlenmesi için uygulanan ELİSA sonuçları Tablo 8'de, sonuçların değerlendirilmesi

Tablo 9 ve Grafik 3'de, spesifite ile ilgili test sonuçları Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 9. İPNV Sp serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçlarının pozitif / negatif OD oranları ve cut off değerleri (492 nm)

	Pozitif ortalama (P)	Negatif ortalama (N)	P/N oranları	Cut off değeri (3SS)
Direkt	0,498	0,086	5,8	0,087
1/10 dilüsyon	0,262	0,088	2,9	0,094
1/100 dilüsyon	0,114	0,091	1,3	0,103
1/1000 dilüsyon	0,095	0,091	1,1	0,093

Grafik 3. İPNV Sp serotipi için uygulanan ELİSA sensitivite sonuçları



Tablo.10. İPNV Sp serotipi için uygulanan ELİSA'nın spesifitesi ile ilgili çalışma sonucunda 492 nm'de okunan OD değerleri

Antijenler	OD değerleri	
İPNV-Sp	0,498	0,516
IHNV	0,088	0,085
VHSV	0,085	0,085
Negatif kontrol	0,085	0,086
Blank	0,087	0,086

Sonuç olarak P/N oranlarının ≥ 2 olması ve negatif kontrol antijen değerlerinin $\pm 3SS$ değerinin (cut-off değeri) pozitif kontrol antijenin değerinden küçük olduğu tespit edilerek testin geçerli olduğu ve İPNV Sp serotipi için sensitivitenin DKID₅₀ değeri $10^{7,3}$ /ml olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

İPN hastalığının hızlı ve doğru teşhisi hastalığın etkili kontrolü, epizootiyolojisinin anlaşılması ve eradikasyonu için oldukça önemlidir (22).

Türkiye’de İPN hastalığının teşhisinde, doku kültüründe virusun izolasyonunu takiben IFAT ve ELİSA rutin olarak kullanılmaktadır. Kullanılan iki test için de ticari kitler ithal olarak gelmektedir. Bu çalışmada gökkuşağı alabalıklarında İPN hastalığı etkeni olan İPNV’nun teşhisinde kullanılan ve diğer serolojik metotlardan daha hızlı, basit, ucuz ve kolay uygulanabilen bir test olan ELİSA testinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

İmmunfloresan ve virus nötralizasyon testleri identifikasyon amacıyla yaygın olarak kullanılan serolojik metotlardır. Ancak bu testlerin zaman alıcı olması, pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulması, sonuçların değerlendirilmesinde ve uygulamada zorlukların olması gibi dezavantajları vardır (37). Nicholsan ve Caswell (22) ELİSA testinin diğer testlere göre daha fazla avantajlı olduğunu belirtmişlerdir.

Genel olarak ELİSA direkt, indirekt, sandviç ve kompetatif olmak üzere 4 grup halinde sınıflandırılmıştır (7). Uygulanacak ELİSA seçiminde, direkt teknikte teşhis edilecek her bir antijen için farklı antikor enzim konjugatı gerekli olduğundan kullanımı sınırlı kalmaktadır. Bu yüzden indirekt teknikler geliştirilmiş ve direk ELİSA’dan daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. İndirek ELİSA için gerekli olan antikorlardan, enzim işaretli antiglobulin ile solid fazda kaplama için kullanılan antikorlar arasında nonspesifik reaksiyonu önlemek için immunolojik olarak farklı immunglobulin içeren 2 hayvan türünde hazırlanması önerilmektedir (40). Çift antikor sandviç ELİSA tekniği uygulanan çalışmalarda antikorları elde etmek amacıyla Rodak ve ark. (29) İPNV Sp serotipi için tavşan ve domuz, Nicholsan ve Caswell (22) VR-299 serotipi için ve Hattori ve ark. (16) VR-299 serotipi için tavşan ve kobay kullanmışlardır. Bu çalışmada antijen tespitinde daha duyarlı olan ve her bir antijen için farklı antikor konjugatı gerektirmeyen çift antikor sandviç ELİSA yöntemi seçilmiştir. İPNV VR-299, Ab ve Sp serotiplerinden antikor elde etmek için hayvan türü olarak bakım ve beslemesi kolay olan tavşan ve kobay kullanılmıştır.

Hill ve ark. (17) yaptıkları çalışmada çeşitli immunizasyon tekniklerini karşılaştırmışlar, en iyi sonucu pürifiye virus ile FCA kullanarak, intramuskuler yoldan uygulama ile elde etmişlerdir. Hattori ve ark. (16) kobayda konsantre virus, tavşanda pürifiye virus kullanarak eşit miktarda Freund complete adjuvan ile emülsifiye edildikten sonra subkutan yol ile immunizasyon yapmışlardır. Bu çalışmada daha spesifik antikor elde etmek

amacıyla immunojen olarak her iki hayvanda da pürifiye virus kullanılmış, adjuvan olarak FCA seçilmiş ve immunizasyon subkutan yoldan enjeksiyon yöntemiyle uygulanmıştır.

Konjugatlardan alkalın fosfatase ve HRP; ucuz, kolay konjugasyon uygulanması ve fazla çeşitte substrat kullanılabilmesi nedeniyle tercih edilmiştir (37). İndirekt sandviç ELİSA’de ticari olarak bulunabilen tür spesifik enzim işaretli antiimmunglobulinlerin kullanılmasının daha avantajlı olduğu belirtilmiştir (31). Peroksidaz için O-Phenylenediamine (OPD)’in iyi bir substrat olduğu bildirilmektedir (37). Bu çalışmada konjugat olarak HRP ile işaretli anti kobay Ig ve substrat olarak OPD kullanılmıştır.

Hattori ve ark. (16) ve Rodak ve ark. (29) İPNV’nun pürifikasyonu için ultrasantrifüj ile konsantrasyon işleminden sonra CsCl gradient uygulamışlardır. Dixon ve Hill (8) pürifikasyon amacıyla PEG 6000 ile konsantrasyon ve sukroz dansiti gradient uygulamışlardır. Virusun konsantrasyonu amacıyla kullanılan metotlardan PEG 6000’in ultra santrifüj ve moleküler filtrasyondan daha iyi bir yöntem olduğu belirtilmektedir (20). Bu çalışmada PEG 6000 ile konsantrasyon ve ultrasantrifüj kullanılarak sukroz dansiti gradient ile pürifikasyon işlemi uygulanmıştır.

Sensivite çalışmalarında, Dixon ve Hill (9) 10^5 PFU / ml, Hattori ve ark. (16) 10^4 DKID₅₀ / ml, Rodak ve ark. (29) 10^3 DKID₅₀/ml ve Dominquez ve ark. (10) monoklonal antikorlar ile avidin-biotin sistemini kullanarak 10^4 DKID₅₀/ ml sensitivite olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar serolojik metodlardaki sensitivitenin büyük oranda kullanılan antikorların spesifite ve kalitesine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Hattori ve ark. (16) sensitivitede ki düşüklüğünün kullanılan anti serumların saflığına bağlı olacağını belirtmişlerdir. Gould (15) sensitivite ile ilgili en önemli faktörün, affinite pürifiye poliklonal veya monoklonal antikor kullanımı ile ilgili olduğunu belirtmiştir. Nicholsan ve Caswell (22) yaptıkları çalışmada WB (VR-299) serotipine karşı geliştirdikleri sistemde sensitivitenin $10^{5.5}$ DKID₅₀/ ml olduğunu tespit etmişler. Bu sensitivitenin İPNV ile enfekte hücre kültüründe genellikle virusun titresinin 10^7 - 10^9 DKID₅₀/ ml olmasından dolayı hücre kültüründe identifikasyon için kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir.

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virusu tespit etmek amacıyla geliştirilen ELİSA’ın, her üç İPNV serotipine karşı uygulanan testlerde yeterli sensitivite ve spesifite gösterdiği tespit edilmiştir. ELİSA

testinin sensitivitesini belirlemek için yapılan çalışmalarda, İPNV VR-299 serotipi için sensitivitenin DKID₅₀ değerinin 10^{6,6}/ml, İPNV Ab serotipinin DKID₅₀ değerinin 10^{6,8}/ml olduğu ve Sp serotipinin sensitivitesinin DKID₅₀ değerinin 10^{7,3}/ml olduğu belirlenmiştir. Testin spesifitesini belirlemek için yapılan çalışmalarda ise İPNV serotipleri ile diğer balık viruslarından olan İHNV ve VHSV'lerinin çapraz reaksiyon vermediği tespit edilip yeterli spesifitenin varlığı ortaya konulmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, geliştirilen ELİSA yönteminin, İPNV'nun teşhisinde uluslararası standart metot olarak kabul edilen doku kültüründe izolasyon yöntemini takiben identifikasyon amacıyla başarılı bir şekilde kullanılabileceği göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü Hastalıklar Anabilim Dalı'na ve eşim Dr. Mestan ÖZYER'e teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. **Adair, B.M., Ferguson, H.W.** (1981) *Isolation of infectious pancreatic necrosis (IPN) virus from non-salmonid fish*. J. Fish Dis., 4: 69-76.
2. **Adams, A.** (1992) *Techniques in Fish Immunology*. pp:177-182. SOS publications, USA.
3. **Agus, C., Mangunwiryo, H., Johnson, R.H., Smail, D.A.** (1982) *A more sensitive technique for isolating infectious pancreatic necrosis virus from asymptomatic carrier rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson*. J.Fish Dis., 5: 285-292.
4. **Anonim.** (2006) *OIE, Infectious Pancreatic Necrosis, Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*. http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A_summry.htm. Erişim tarihi: 09.10.2007.
5. **Beard, C.W.** (1989) *Serological procedure*. 192-200. In: Purchase H.G., Lawrence, C., Arp, L.H., Domermuth, C.H., Pearson J.E. (Eds): *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*. Kendall/Hunt Publishing, Iowa, USA.
6. **Candan, A.** (2002) *First report on the diagnosis of infectious pancreatic necrosis (IPN) based on reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in Turkey*. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 22 (1): 45-48.
7. **Crowther, J.R.** (1995) *ELISA*. Humana Press Inc., Totowa, New Jersey.
8. **Dixon, P.F., Hill, B.J.** (1983) *Inactivation of infectious pancreatic necrosis virus for vaccine use*. J.Fish Dis., 6: 399-409.
9. **Dixon, P.F., Hill, B.J.** (1983) *Rapid detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*. J.Gen.Virol., 64: 321-330.
10. **Domínguez, J., Hedrick, R.P., Sánchez-Vizcaino, J.M.** (1990) *Use of monoclonal antibodies for detection of infectious pancreatic necrosis virus by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*. Dis. Aquat. Org., 8: 157-163.
11. **Dobos, P., Rowe, D.** (1977) *Peptide map comparison of infectious pancreatic necrosis virus-specific polypeptides*. J. Virol., 24: 805-820.
12. **Dopazo, C.P., Barja, J.L.** (2002) *Diagnosis and identification of IPNV in salmonids by molecular methods*. 23-48. In: Cunningham, C.O (Ed.): *Molecular Diagnosis of Salmonid Diseases*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
13. **Essbauer, S., Ahne, W.** (2001) *Viruses of lower vertebrates*. J. Vet. Med B., 48: 403-475.
14. **Evensen, Ø., Rimstad, E.** (1990) *Immunohistochemical identification of infectious pancreatic necrosis virus in paraffin-embedded tissues of Atlantic salmon (Salmo salar)*. J. Vet. Diagn. Invest., 2: 288-293.
15. **Gould, B.J.** (1988) *The use of enzymes in ultrasensitive immunoassay*. 53-65. In: Clifford, M.N., Jackman, R. (Eds): *Immunoassays for Veterinary and Food analysis-1*. Elsevier Applied Science, London.
16. **Hattori, M., Kodama, H., Ishiguro, S., Honda, A., Mikami, T., Izawa, H.** (1984) *In vitro and in vivo detection of infectious pancreatic necrosis virus in fish by enzyme linked immunosorbent assay*. Am. J. Vet. Res., 45(9): 1876-1879.
17. **Hill, B.J., Williams, R.F., Finlay, J.** (1981) *Preparation of antisera against fish virus disease agents*. Dev. Biol. Stand, 49: 209-218.
18. **Hill, B.J., Way K.** (1995) *Serological classification of infectious pancreatic necrosis (IPN) virus and other aquatic birnaviruses*. Annu. Rev. Fish Dis., 5: 55-77.
19. **Isshiki, T., Nagano, T., Suzuki, S.** (2001) *Infectivity of aquabirnavirus strains to various marine fish species*. Dis. Aquat. Org., 73: 2863-2870.
20. **Killington, R.A., Stokes, A., Hierholzer, J.C.** (1996) *Virus Purification*. 71-88. In: Mahy, B.W.J., Kangro, H.O. (Eds): *Virology Methods Manual*. Academic Pres, London.

21. **Medina, J.M., Chang, P.W., Bradley, T.M., Yeh, M.T., Sadasiv, E.C.** (1992) *Diagnosis of infectious hematopoietic necrosis virus in Atlantic salmon, Salmo salar by enzyme-linked immunosorbent assay*. Dis. Aquat. Org., 13: 147-150.
22. **Nicholson, B.L., Caswell, P.** (1982) *Enzyme-linked immunosorbent assay for identification of infectious pancreatic necrosis virus*. J. Clin. Microbiol., 16 (3): 469-472.
23. **Nishizawa, T., Kinoshita, S., Yoshimizu, M.** (2005) *An approach for genogrouping of Japanese isolates of aquabirnaviruses in a new genogroup, VII, based on the VP2/NS junction region*. J. Gen. Virol., 86: 1973-1978.
24. **Noga, E.J.** (1996) *Fish Disease Diagnosis and Treatment*. pp.208-211. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, Missouri.
25. **Novoa, B., Toranzo, A.E., Dopazo, C.P., Barja, J.L., Figueras, A.** (1993) *Isolation of IPN virus serotype VR-299 from turbot in Europe*. Dis. Aquat. Org., 17: 61-65.
26. **Reno, P.W.** (1999) *Infectious pancreatic necrosis virus and associated aquatic birnaviruses*. <http://www.cabiPublishing.org/pdf/Books/0851991947/1947ch1.pdf>. Erişim tarihi: 22.06.2004.
27. **Rimstad, E.** (2003) *IPN in salmonids a review*. <http://www.fiskerifond.no/files/projects/attach/IPNsalmoids.pdf>. Erişim tarihi: 28.03.2005.
28. **Ross, K., Munro A.L.S.** (1995) *Serological analysis of virulent infectious pancreatic necrosis virus strains*. J. Fish Dis., 8: 377-380.
29. **Rodák, L., Pospíšil, Z., Tománek, J., Veselý, T., Obr, T., Valíček, L.** (1988) *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in culture fluids and tissue homogenates of the rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson*. J. Fish Dis., 11: 225-235.
30. **Sanz, F., Coll, J.** (1992) *Techniques for diagnosing viral diseases of salmonid fish*. Dis. Aquat. Org., 13: 211-223.
31. **Sauer, M.J., Foulkes, J.A., Morris, B.A.** (1985) *Principles of Enzyme Immunoassay*. 53-72. In: Morris, B.A., Clifford, M.N. (Eds): *Immunoassays in Food Analysis*. Elsevier Applied Science Publishers, London.
32. **Savigny, D., Voller, A.** (1980) *The communication of ELISA data from laboratory to clinician*. J. Immunoassay, 1 (1): 105-128.
33. **Schlotfeldt, H.J.** (1979) *Infectious pancreatic necrosis (IPN) salmonids part 1 Aetiology, epizootiology and control*. Tierärztl. Umsch., 34: 539-546.
34. **Smail, D.M., Munro, A.L.S.** (1989) *The Virology of Teleost in Fish Pathology*. 216-226. In: Roberts, R.J. (Ed): *Fish Pathology*. 2nd ed., Bailliere Tindall, London, England.
35. **Suzuki, S., Nojima, M.** (1999) *Detection of marine birnavirus in wild molluscan shellfish species from Japan*. Fish Pathol., 34 (3): 121-125.
36. **Vestergard Jorgensen, P.E., Kehlet, N.P.** (1971) *Infectious pancreatic necrosis (IPN) viruses in Danish rainbow trout, their serological and pathogenic properties*. Nord. Vet.-Med., 23: 568-575.
37. **Voller, A., Bidwell, D.E., Barlett, A.** (1979) *The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. pp.125. Dynatech Laboratories, Inc., Alexandria, Virginia, USA.
38. **Wolf, K., Dunbar, C.E., Snieszko, S.F.** (1960) *Infectious Pancreatic Necrosis virus of Trout: I. A Tissue Culture Study*. Prog. Fish Cult., 22 (2): 64-68.
39. **Wolf, K.** (1988) *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. pp.115-157. Cornell University Press, Ithaca, N.Y., USA.
40. **Yolken, R.H.** (1982) *Enzyme immunoassays for the detection of infectious antigens in body fluids current limitations and future prospects*. Rev. Infect. Dis., 4 (1): 35-65.

Yazışma Adresi:

Dr. Buket ÖZKAN ÖZYER
 Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Viroloji Bölümü
 35010 Bornova/İZMİR
 E-posta: ozbuket30@yahoo.com

KARADENİZ BÖLGESİ *CULICOIDES* (DIPTERA: CERATOPOGONİDAE) TÜRLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

A STUDY ON *CULICOIDES* (DIPTERA: CERATOPOGONİDAE) SPECIES IN BLACK SEA REGION IN TURKEY

Bilal DİK¹

Mitat KURT²

İsmail AYDIN²

Geliş Tarihi (Received): 28.10.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 29.12.2008

ÖZET

Bu alışma, Karadeniz Bölgesi *Culicoides* türlerinin belirlenmesi amacıyla Haziran 2006-Ağustos 2007 tarihleri arasında yapılmıştır. Bu süre içerisinde, Sinop, Samsun, Ordu, Giresun ve Amasya'dan ışık tuzakları ile *Culicoides* örnekleri toplanmıştır. *C.circumscriptus* Kieffer, 1918, *C. duddingstoni* Kettle ve Lawson, 1955, *C.festivipennis*, Kieffer, 1914, *C. flavipulicaris* Dzhafarov, 1964, *C. gejelensis* Dzhafarov, 1964, *C.longipennis* Khalaf, 1957, *C.maritimus* Kieffer, 1924, *C.newsteadi* Austen, 1921, *C. obsoletus komp.*, (Meigen), 1818, *C. picturatus* Kremer ve Deduit, 1961, *C.pumilus* (Winnertz), 1852, *C. punctatus* (Meigen), 1804, *C. sahariensis* Kieffer, 1923 ve *Culicoides sp.* olmak üzere 14 tür tespit edilmiştir. *C.duddingstoni*'nin dişisi bu araştırma ile Türkiye'den ilk kez bildirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Culicoides*, Karadeniz Bölgesi, Türkiye

SUMMARY

This study was carried out to detect of *Culicoides* species in Blacksea region of Turkey between June 2006-August 2007. In this period, *Culicoides* samples were captured by using light traps from Sinop, Samsun, Ordu, Giresun and Amasya. Fourteen species, *C. circumscriptus* Kieffer, 1918, *C. duddingstoni* Kettle and Lawson, 1955, *C. festivipennis*, Kieffer, 1914, *C. flavipulicaris* Dzhafarov, 1964, *C. gejelensis* Dzhafarov, 1964, *C.longipennis* Khalaf, 1957, *C. maritimus* Kieffer, 1924, *C. newsteadi* Austen, 1921, *C. obsoletus comp.*, (Meigen), 1818, *C.picturatus* Kremer and Deduit, 1961, *C.pumilus* (Winnertz), 1852, *C. punctatus* (Meigen), 1804, *C. sahariensis* Kieffer, 1923 and *Culicoides sp.* were detected. A female specimen of *C. duddingstoni* was observed for the first time in Turkey.

Key Words: Black sea region, *Culicoides*, Turkey

GİRİŞ

Culicoides cinsindeki sinekler, özellikle geceleri konaklarına saldırarak onlardan kan emerler. Bazı türler mavi dil (2-5, 9, 14, 18, 25), akabane (3, 6, 9, 18), ephemeral fever (9, 13), at vebasası (2, 3, 16) ve epizootik hemorajik disease (1, 3) gibi hastalıkların bulaştırılmasında vektör ödevi görürler. Bu hastalıklar zaman zaman Türkiye'nin değişik bölgelerinde görölmüş ve birçok hayvanın ölümüne neden olmuştur. Her ülkede olduğu gibi, Türkiye'de de, gerek bu hastalıklarla mücadele için bazı verilere sahip olmak ve gerekse Türkiye *Culicoides* faunasını belirlemek amacıyla bazı çalışmalar yapılmaktadır. Türkiye *Culicoides* faunası üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu araştırmalar özellikle son 30 yıl içinde yapılmıştır. Navai (17) tarafından başlatılan bu araştır-

malar, Jennings ve ark (14), Dik (4, 5, 7, 10), Yılmaz (24) ve diğer araştırmacılar tarafından devam ettirilmiştir. Bu çalışmaların (4, 5, 7, 10, 14, 17, 24) hemen hemen tamamı erginlerin yakalanmaları ve teşhis edilmeleri esasına dayanmaktadır. *Culicoides* türlerinin gelişme dönemleri üzerine ilk çalışmalar ise Uslu ve Dik (22) tarafından başlatılmış, bu araştırmacılar, Konya yöresinde, değişik üreme yerlerinden aldıkları materyallerde 18 *Culicoides* türü ürediğini bildirmişlerdir. Uslu ve Dik (20), *Culicoides* türlerinin İç Anadolu Bölgesi'ndeki mevsimsel dağılımlarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, *Culicoides* örneklerine Nisan-Ekim ayları arasında rastladıklarını, en çok örneğin Temmuz ve Ağustos aylarında toplandığını belirtmişlerdir. Dik ve Ergöl (8), *Culicoides* türlerinin gece uçuş aktivitelerini incelemişler,

¹ Prof. Dr. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, 42075 Selçuklu/Konya

² Uzm.Vet. Hekim Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Samsun

uçuş aktivitesinin türlere göre değişkenlik gösterdiğini, bununla birlikte en çok güneşin batışından hemen sonra ve gece yarısına kadar uçtuklarını, aktivitenin daha sonra azaldığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmalar sonucu, Türkiye’de 57 *Culicoides* türü tespit edilmiştir. Dik ve ark (9), 2005 yılına kadar yapılan araştırmaları ayrıntılı bir biçimde değerlendirerek Türkiye *Culicoides* türlerinin dağılımlarını gösteren bir harita hazırlamışlardır.

Bazıları sadece bir il veya ilçe bazında olsa bile, Akdeniz, Ege, Güney Doğu Anadolu, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Marmara bölgelerindeki *Culicoides* türleri üzerine yapılmış çalışmalar bulunmakla birlikte, Karadeniz bölgesindeki *Culicoides* türleriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu araştırma, Karadeniz Bölgesi *Culicoides* türlerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu araştırma, Haziran 2006-Ağustos 2007 tarihleri arasında Karadeniz bölgesinde Sinop (Aklıman), Samsun (Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü-Atakum, Derbent Barajı çevresi-Bafra, Havza, Kavak, Tekkeköy), Ordu (Ünye), Giresun (Bulancak) ve Amasya (Gümüşhacıköy) illerinde yapılmıştır. *Culicoides* örneklerinin toplanmasında Dik (4, 5, 7) tarafından belirtilen şekilde civa buharlı lamba ve balasttan oluşan ışık tuzakları kullanılmıştır. Bu merkezlere toplam 16 kez ışık tuzağı kurulmuş ve toplanan insektler ertesi gün laboratuvarında incelenerek *Culicoides* örnekleri seçilmiş ve içlerinde % 70’lik alkol bulunan şişelerde saklanmışlardır. Şişelerin üzerlerine, örneklerin nerede ve ne zaman yakalandıklarını gösteren etiketler yapıştırılmıştır. *Culicoides* örnekleri alkol-fenolde saydamlaştırılıp, Faure Forte Medium ile lam üzerine yapıştırıldıktan sonra etüvde kurutulmuşlar ve Olympus CX31 marka ışık mikroskopunda teşhis edilmişlerdir.

BULGULAR

Araştırmada oldukça az sayıda *Culicoides* örneği yakalanmış, fakat 14 *Culicoides* türü tespit edilmiştir. En çok örnek Sinop’tan yakalanmış, onu Samsun, Amasya, Giresun ve Ordu illeri izlemiştir. Kurulan ışık tuzağı sayısı dikkate alındığında, yine en çok *Culicoides* örneği Sinop’tan toplanmıştır. En fazla Samsun’da tuzak kurulmasına rağmen, bu ilde yakalanan *Culicoides* örneği sayısı oldukça düşük olmuş, Tekkeköy ve Samsun merkezde kurulan tuzaklarla herhangi bir *Culicoides* örneği yakalanamamıştır. Diğer taraftan; Ordu, Giresun

ve Amasya’da kurulan ışık tuzaklarıyla da çok az sayılarda *Culicoides* örneği yakalanabilmiştir.

Karadeniz Bölgesi’nde Saptanan *Culicoides* Türleri

Karadeniz bölgesinde tespit edilen *Culicoides* türlerinin isimleri ve toplama merkezlerine göre dağılımı Tablo 1’de belirtilmiştir.

Tablo 1. Karadeniz Bölgesinde tespit edilen *Culicoides* türleri ve toplama merkezlerine göre dağılımları

Tür ismi	Sinop	Samsun	Ordu	Giresun	Amasya
<i>C. circumscriptus</i>	7	1	1	7	4
<i>C. duddingstoni</i>	1	-	-	-	-
<i>C. festivipennis</i>	1	-	-	-	-
<i>C. flavipulicaris</i>	-	3	-	-	-
<i>C. gejjelensis</i>	-	1	-	-	2
<i>C. longipennis</i>	-	1	-	-	-
<i>C. maritimus</i>	102	24	-	-	-
<i>C. newsteadi</i>	2	-	-	-	-
<i>C. obsoletus komp</i>	-	3	-	3	1
<i>C. picturatus</i>	-	-	-	-	10
<i>C. pumilus</i>	-	10	-	-	-
<i>C. punctatus</i>	5	2	-	-	-
<i>C. sahariensis</i>	-	-	1	-	-
<i>Culicoides</i> sp	2	-	-	-	-
Toplam	120	45	2	10	17

1. *C. circumscriptus* Kieffer, 1918; Bu türe araştırma yapılan bütün illerde rastlanmıştır. 3 ♀♀ 4 ♂♂ 12.6.2006 Aklıman, Sinop; 1 ♀ 19.6.2007 Kavak, Samsun; 7 ♀♀ 24.8.2006 Bulancak, Giresun; 1 ♂ 21.8.2006 Ünye, Ordu; 4 ♀♀ 21.7.2006 Gümüşhacıköy, Amasya.
2. *C. duddingstoni* Kettle ve Lawson, 1955; Bu tür sadece Sinop’tan yakalanmıştır. 1 ♀ 12.6.2006 Aklıman, Sinop. Bu türün dişisi, bu çalışma ile Türkiye’de ilk kez tespit edilmiştir.
3. *C. festivipennis*, Kieffer, 1914; Bu türe de sadece Sinop’ta rastlanmıştır. 1 ♀ 12.6.2006 Aklıman, Sinop.
4. *C. flavipulicaris* Dzhafarov, 1964; Bu tür sadece Samsun’dan yakalanmıştır. 1 ♀ 13.6.2006 Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Bahçesi, Atakum, Samsun; 2 ♂♂ 19.6.2007 Kavak, Samsun.
5. *C. gejjelensis* Dzhafarov, 1964; Bu türe Samsun ve Amasya’da rastlanmıştır. 1 ♀ 19.6.2007 Kavak, Samsun; 2 ♀♀ 21.7.2006 Gümüşhacıköy, Amasya.
6. *C. longipennis* Khalaf, 1957; Bu türün sadece bir örneği yakalanabilmiştir. 1 ♀ 19.6.2007 Kavak, Samsun.

7. *C. maritimus* Kieffer, 1924; Bu türe Sinop ve Samsun'da rastlanmıştır. Bu tür diğer türlere oranla daha çok sayıda yakalanmıştır. 102 ♀♀ 12.6.2006 Aklıman, Sinop; 7 ♀♀ 13.6.2006 Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Bahçesi, Atakum, Samsun; 13 ♀♀ 4 ♂♂ 19.6.2007 Kavak, Samsun.
8. *C. newsteadi* Austen, 1921; 2 ♀♀ 12.6.2006 Aklıman.
9. *C. obsoletus* komp., (Meigen), 1818; 2 ♀♀ 3.5.2007 Derbent Barajı çevresi-Bafra, Samsun; 1 ♀ 25.6.2007, Havza, Samsun; 3 ♀♀ 24.8.2006 Bulancak, Giresun; 1 ♀ 21.7.2006 Gümüşhacıköy, Amasya.
10. *C. picturatus* Kremer ve Deduit, 1961; Bu türe sadece Amasya'da rastlanmıştır. 10 ♀♀ 21.7.2006 Gümüşhacıköy, Amasya.
11. *C. pumilus* (Winnertz), 1852; Bu tür sadece Samsun'dan toplanmıştır. 10 ♀♀ 19.6.2007 Kavak, Samsun.
12. *C. punctatus* (Meigen), 1804; Bu türe Sinop ve Samsun dışındaki illerde rastlanmamıştır. 5 ♀♀ 12.6.2006 Aklıman, Sinop; 2 ♀♀ 19.6.2007 Kavak, Samsun.
13. *C. sahariensis* Kieffer, 1923; Bu tür sadece Ordu'da yakalanmıştır. 1 ♀ 21.8.2006 Ünye, Ordu.
14. *Culicoides* sp. Bu türe sadece Sinop'ta rastlandı. 1 ♀ 12.6.2006 Aklıman, Sinop, 1 ♀ 14.6.2007 Aklıman, Sinop. Bu türün morfolojik özellikleri aşağıda verilmiştir.

Dişi

Gözler ayırıcıdır. Frons dar olup, genişliği bir fasetten daha azdır. Üçüncü palp segmenti nispeten kalındır ve uzunluğu genişliğinin iki katıdır. Üçüncü palp segmentindeki duyu organı küçük ve silindirik şeklindedir. Palp uzunluğu 195 µm, palpal oran ise 2'dir. Anten uzunluğu 571 µm olup, bütün anten segmentlerinde sensilla coeloconica mevcuttur. III-IX. segmentlerdeki sensilla coeloconica sayısı birden fazladır. Kanat açık lekelerle sahiptir. İkinci radial hücrenin apikal ucu açıktır. R5, M1 ve M2 hücrelerinin apikal uçlarında birer tane açık leke mevcuttur. Kanat lekelerinin dağılımları *Pictipennis* gr. üyelerinkine benzemektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye'de, *Culicoides* türlerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışma sayısı son 30 yıldır artış göstermiştir. Navai (17) ile başlatılan sistematik

araştırmalar Jennings ve ark (14) tarafından devam ettirilmiştir. Dik (7), Konya yöresinde bulunan *Culicoides* türleri üzerine yaptığı kapsamlı araştırmayı takiben, Akdeniz ve Ege bölgelerinde sistematik çalışmalar yapmıştır (4, 5). Diğer taraftan, aynı yıllarda Türkiye'nin farklı bölgelerinde de bazı araştırmalar yapılmıştır (2, 11, 12, 15, 19, 21, 23). Bütün bu çalışmalar sonucu, Türkiye'de saptanan *Culicoides* cinsindeki tür sayısı 57'e ulaşmıştır.

Bu araştırmada, daha önce hiç çalışma yapılmamış olan Karadeniz bölgesi *Culicoides* türleri belirlenmeye çalışılmış ve bölgede 14 tür tespit edilmiştir. Bu türlerin 13'ünün Türkiye'deki varlığı bilinmekle birlikte, bir tanesine ilk kez rastlanmıştır. Erkek örnekleri olmadığı için kesin olarak teşhis edilemeyen bu türün kanat benekleri *C. pictipennis* ve kısmen de *C. gejelensis*'inkine benzemekle birlikte, diğer morfolojik özellikleri ile onlardan ayrılmaktadır. İncelenen her iki örneğin de morfolojik özellikleri daha önce Türkiye'de tespit edilen diğer türlerden farklıdır.

Bu araştırmada çok az sayıda *Culicoides* örneği yakalanmıştır. Genel olarak her ilde yakalanan örnek sayısı az olmakla birlikte, Sinop'tan toplanan *Culicoides* örneği sayısı diğer illere oranla biraz daha fazla olmuştur. Sinop'tan toplanan örnek sayısının çok olması, ışık tuzaklarını kurulduğu ahırların çevresinin tamamen bataklık benzeri bir alan olması ve dolayısıyla *Culicoides* türlerinin üremeleri için uygun ortam oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, diğer bölgelerde yakalanan örnek sayısı genellikle çok sınırlı olmuştur. Yakalanan örnek sayısının çok az olmasının nedeni kurulan tuzak sayısının az olmasına bağlı olabileceği gibi, bölgede Kırım Kongo Kanamalı Ateşi mücadelesi nedeniyle yapılan insektisit uygulamalarından da ileri gelmiş olabilir.

Bu araştırmada *C. maritimus*'a diğer türlerden daha fazla rastlanmış, bunu *C. circumscriptus* takip etmiştir. Diğer türler ise genel olarak bir veya birkaç örnekle sınırlı kalmıştır. Türkiye'nin değişik bölgelerinde yapılan birçok çalışmada da (4, 5, 7, 11, 12, 22, 24, 25) *C. maritimus* ve *C. circumscriptus*'a diğer türlere oranla daha çok rastlanması, bu türlerin her üreme yerinde üreme yeteneğine sahip olmasından kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak; Karadeniz bölgesinde yakalanan örnek sayısı çok az olmasına rağmen 14 tür tespit edilmiştir. Araştırmanın daha farklı habitatlara sahip bölgelerde yapılması ve bölgenin genişletilmesi halinde yakalanan örnek sayısının ve tür çeşidinin artması muhtemeldir.

KAYNAKLAR

1. **Burgu İ., Akça Y., Hamblin, C., Kitching, P.** (1991) *Epizootic Haemorrhagic Disease virus antibodies in Turkey*. Trop. Anim. Hlth. Prod., 23: 261-262.
2. **Burgu İ., Urman, H.K., Akça, Y., Yonguç, A., Mellor, P.S., Hamblin, C.** (1992) *Serologic survey and vector surveillance for bluetongue in southern Turkey*. 168-174. In: Walton, T.E., Ousburn, B.I. (Eds): *Bluetongue, African Horse Sickness and related orbiviruses*. Boca Raton: CRC Press, Florida.
3. **Dik, B.** (1988-1989) *Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) soyuna bağlı sineklerin tıbbi önemleri*. Elazığ Bölgesi Vet. Hek. Odası Derg., 3-4 (1-2-3): 33-40.
4. **Dik, B.** (1993) *Adana, İçel ve Antalya yörelerinde bulunan Culicoides Latreille, 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) türlerinin tespiti*. Türk Vet. Hek. Derg., 5 (2): 48-55.
5. **Dik, B.** (1996) *Ege bölgesi Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türlerinin tespiti*. T. Parazitol. Derg., 20 (1): 131-137.
6. **Dik, B.** (1997) *Ceratopogonid'ler ve Parazitolojik Önemleri*. 111-143. Özcel, M.A., Daldal, N. (Editörler): *Parazitolojide Artropod Hastalıkları ve Vektörler*. T. Parazitol. Derg., Yayın No: 13.
7. **Dik, B., Dinçer, Ş.** (1992) *Konya ve çevresinde bulunan Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türleri*. Doğa Türk. Vet. Hay. Derg., 16 (2): 199-215.
8. **Dik, B., Ergül, R.** (2006) *Konya'daki Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türlerinin gece uçuş aktiviteleri*. T. Parazitol. Derg., 30 (3): 213-216.
9. **Dik, B., Yağcı, Ş., Linton, Y-M.** (2006) *A review of species diversity and distribution of Culicoides Latreille, 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) in Turkey*. J. Nat. Hist., 40 (32-34): 1947-1967.
10. **Dik, B., Karatepe, M., Karatepe, B., Yağcı, Ş.** (2006) *Niğde yöresi Culicoides Latr, 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) türleri*. T. Parazitol. Derg., 30 (2): 121-124.
11. **Eren, H., İnci, A.** (2002) *Bursa (Gemlik)'da saptanan Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türleri*. T. Parazitol. Derg., 26 (2): 199-200.
12. **Eren, H., Yağcı, Ş., Dinçer, Ş.** (1995) *Ankara'da bulunan Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türleri*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 42: 179-182.
13. **Girgin, H., Yonguç, A.D., Akçora, A., Aksak, E.** (1986) *Türkiye'de ilk Bovine Ephemeral Fever salgını*. Etlik Vet. Mikrob. Enst. Derg., 5 (10-11-12): 5-14.
14. **Jennings, M., Boorman, J., Ergün, H.** (1983) *Culicoides from Western Turkey in relation to bluetongue disease of sheep and cattle*. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays. Trop., 36: 67-70.
15. **Leclercq, M.** (1966) *Contribution à l'étude des diptères suceurs de sang de Turquie*. Bull. Rech. Argon. Gembloux, 1: 455-457.
16. **Mimioğlu, M.** (1961) *At vebası çıkan Güney Doğu illerimizde sokucu sinekler üzerinde araştırmalara dair ilk bildiri*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 8: 437-439.
17. **Navai, S.** (1977) *Biting-Midges of the Genus Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) From Southwest Asia*. Ph.D. Thesis, University of Maryland, pp. 201
18. **Sellers, R.F., Pedgley, D.E.** (1985) *Possible windborne spread to Western Turkey of bluetongue virus in 1977 and of akabane virus in 1979*. J. Hyg. Camb., 95: 149-158.
19. **Tilki, N., Dik, B.** (2003) *Farklı renkteki ışıkların Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türlerinin yakalanmaları üzerine etkileri*. T. Parazitol. Derg., 27 (2): 144-147.
20. **Uslu, U., Dik, B.** (2004) *Konya yöresinde Culicoides türlerinin (Diptera: Ceratopogonidae) mevsimsel dağılımları*. Vet. Bil. Derg., 20 (4): 5-10.
21. **Uslu, U., Dik, B.** (2006) *The vertical distribution of Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) larvae and pupae*. Med. Vet. Entomol., 20: 350-352.
22. **Uslu, U., Dik, B.** (2007) *Description of breeding sites of Culicoides species (Diptera: Ceratopogonidae) in Turkey*. Parasite, 14: 173-177.
23. **Yağcı, Ş., Eren, H., Dinçer, Ş.** (1999) *Aydın (Umurlu)'da saptanan bazı Nematocera (Diptera) türleri*. T. Parazitol. Derg., 23 (2): 210-215.
24. **Yılmaz, H.** (1994) *Elazığ yöresinde bulunan Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türleri üzerine araştırmalar*. Doktora Tezi, Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 173 sayfa.
25. **Yonguç, A.D., Taylor, W.P., Csontos, L., Worrall, E.** (1982) *Bluetongue in Western Turkey*. Vet. Rec., 111: 144-146.

Yazışma Adresi:

Prof. Dr. Bilal Dik
 Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
 Parazitoloji Anabilim Dalı
 42031 Konya
 e-mail: bdik@selcuk.edu.tr

ET VE ET ÜRÜNLERİNDE ELISA TEKNİĞİ İLE TÜRLERİN TESPİTİ

DETERMINATION OF SPECIES IN MEAT AND MEAT PRODUCTS WITH ELISA TECHNIQUE

Özhan TÜRKYILMAZ¹

Hülya IRMAK¹

Geliş Tarihi (Received): 10.11.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 28.11.2008

ÖZET

Et ve et ürünlerinde kullanılan et türlerinin belirlenmesi, ekonomik nedenlerin yanında insan sağlığının koruması için de önem taşımaktadır. Bu çalışmada, İzmir İli ve çevresinden Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne getirilen toplam 116 et ve et ürünü, ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) ile incelenmiştir. Analiz sonucunda toplam 116 örneğin 76'sında (% 65.5) sığır eti, 27'sinde (% 23.3) sığır / tavuk eti karışımı, 7'sinde (% 6.0) tavuk eti, 3'ünde (% 2.6) domuz eti, 2'sinde (% 1.7) at eti ve birinde (% 0.9) sığır / domuz eti karışımı tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları ile incelenen örneklerin etiket bilgileri karşılaştırıldığında, 18 (% 15.5) örneğin etiket bilgilerinden farklı et türlerini içerdiği saptanmıştır. Sonuç olarak, İzmir İli'nde imal edilen et ve et ürünlerine farklı hayvan türlerine ait etlerin karıştırıldığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: ELISA, et, et ürünü, hayvan türü.

SUMMARY

The detection of meat types used in meat and meat products is important because of economical reasons as well as the protection of human health. In this study, 116 meat and meat products from Izmir province that received by Bornova Veterinary Control and Research Institute have been analysed with ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). It was determined that from 116 samples 76 were beef (% 65.5), 27 were a mixture of beef and chicken (% 23.3), 7 were chicken (% 6.0), 3 were pork (% 2.6), 2 were horse flesh (% 1.7) and one of them was a mixture of pork and beef (% 0.9). When the information on the labels of these 116 samples were reviewed, 18 of the samples (% 15.5) were found to contain meat kinds that were different from the notifications on the label. Consequently, it was determined that meat and meat products that had been produced in Izmir were mixed with meat belonging to various animal species.

Key Words: Animal species, ELISA, Meat, meat product.

GİRİŞ

Et ve et ürünleri yüksek besin değeri, doyuruculuğu ve lezzet açısından insan beslenmesinde ön sırada yer alan besin maddeleridir. Et, insan organizmasında kayba uğrayan proteinlerin yaklaşık % 100'ünü ikame edebilmektedir (16). Geniş anlamda et denilince dana, koyun, sığır, manda, keçi, deve ve domuz gibi hayvanların taze, tuzlanmış ve tütsülenmiş etleri anlaşılırken, dar anlamda ise kesim hayvanının iskelet kaslarının tümüne et denilmektedir (15).

Et kontrolünün insan sağlığını korumaktan başka, ekonomik önemi de vardır. Düşük değerli bir etin üstün değerli et olarak pazarlanıp tüketicinin aldatılması ancak et kontrolü ile önlenir. Hiçbir gıda maddesi et kadar tüketicileri aldatmaya

ve üzerinde hile yapmaya elverişli değildir. Değerli, pahalı ve sağlıklı hayvan etleri, çok daha az değerli etlerle ve hasta hayvanların etleriyle rahatlıkla karıştırılabilir. Et muayenesinin düzenli olarak yapılmadığı durumlarda, bazı kasaplar düşük değerli ve hasta hayvanların etlerini çok ucuz bir fiyatla alarak, bütün bunlardan habersiz olan tüketicilere kaliteli et gibi yüksek bir fiyata satmaktadırlar (19).

Et ve et ürünlerinde yer alan etlerin hangi hayvan türüne ait olduğunun tespiti ile bir taraftan ahlaki ve ekonomik yönden haksız bir rekabet önlenirken, diğer taraftan dini inançları doğrultusunda bazı hayvanlara ait etleri tüketmeyen insanların aldatılmasının önüne geçilmiş olmaktadır (4, 6, 20). Et ve et ürünlerinde kullanılan etlerde hayvan türü tanımlaması genellikle ekonomik

nedenlerden dolayı yapılmakla birlikte, bazı etlerin yenilmesi (at ve domuz gibi) dinsel ve ulusal kanunlarla sınırlandırılmıştır (8).

İnsanların aldatılmasının önlenmesi amacıyla gıdaların kontrolünde hassas, hızlı ve aynı zamanda düşük maliyetli yöntemlerin geliştirilmesi ve uygulanmasına gereksinim vardır (20). Et ve et ürünlerinin ayırımında duyuşal niteliklere, anatomik farklılıklara, kılların histolojik özelliklerine, doku yağlarının özelliklerine ve etlerdeki glikojen miktarına dayanan yöntemlerin yanı sıra immünojenik, morfolojik, elektroforetik, serolojik ve genetik metotlar kullanılmaktadır (3, 8, 13, 14).

ELISA gibi immünoenzimatik yöntemler hassas, spesifik, basit ve hızlı olmaları ile tür tespitinde tercih edilmektedir (18). ELISA, hileli hazırlanmış taze et karışımları ile ısıtılmış işlem görmüş et ürünlerinde hayvan türünün tespiti için etkili bir metot olarak bildirilmektedir (1, 10).

ELISA ile etlerin hangi hayvan türüne ait olduğunun ayırt edilmesinde, türe özgü poliklonal ve monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Bunlardan monoklonal antikorlar homojen antikor popülasyonuna sahip olmaları, spesifikleri, yaygın olarak kullanılmaları, tanınmış biyolojik aktiviteleri ve düşük maliyetleri ile tercih edilmektedir (7, 17).

Bu çalışmada, İzmir İli ve çevresinden Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne getirilen çeşitli çiğ et ve et karışımı ile ısıtılmış işlem görmüş et ürünlerinde, sığır, domuz, at ve tavuk eti varlığının ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) ile tespiti amaçlanmış ve örneklerin ilgili standartlara uygunluğu incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

İzmir İli ve çevresinden Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne getirilen 116 adet et ve et ürünleri örneği incelenmiştir. Örnekler Enstitü Müdürlüğünün Numune Kabul ve Raporlama Birimine soğuk zincir altında getirilerek teslim edilmiştir. Laboratuvara gelen örnekler en kısa sürede analize alınmıştır. Et ve et ürünlerinde hayvan türünün tespiti ELISA-TEK™ Cooked Meta Speciation Kits, ELISA Technologies, Inc. Florida / U.S.A. ELISA kiti ile gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin Hazırlanması

Çiğ ya da ısıtılmış işlem görmüş et ve et ürün örnekleri, öncelikle küçük parçalar haline getiril-

miştir. Örneklerden 50'şer gram tartılarak filtrelili stomacher poşetlerine konulmuştur. Bu poşetlere 100 ml tuzlu su (% 0.9 (0.15M) Sodium chloride) ilave edilmiştir. Klipsler ile poşetlerin ağzı kapatılarak stomacher cihazına (IUL, Instrument) takılmış ve 60 sn parçalanmaya bırakılmıştır. ELISA kiti yalnızca ısıtılmış işlem görmüş örneklerde kullanılabilirdiği için, çiğ örnekler filtrasyon veya santrifüj işlemlerinden önce 15 dk süreyle su banyosunda (95-100°C) tutulmuştur. Örnek üzerinde kalan sıvı kısım (örneğe bağlı olarak) berrak değilse, örnek filtrasyon veya santrifüj yardımıyla ekstrakte edilmiştir. Süzme işlemi filtre kağıtları (Whatman No: 4) kullanılarak veya örnekler 10.000 G'de 10 dk santrifüj edilerek gerçekleştirilmiştir. ELISA için berrak supernatant doku ekstraktı kullanılmıştır. Örnek, yağ tabakasının yoğun olduğu durumlarda, mevcut tabakanın alt kısmından dikkatli bir şekilde alınmıştır.

Test Prosedürü

ELISA kitinin plak planı, örneklerin sayısına göre pozitif kontrol, % 1 pozitif kontrol, negatif kontrol ve örneklerin sayısına göre oluşturulmuştur. Pozitif kontroller için test kitine ait pozitif kontrol solüsyonları kullanılmıştır. Yüzde bir pozitif kontrol için test kitinin pozitif kontrolünün % 1'lik dilüsyonu ve negatif kontrol için de % 0.9 (0.15M) tuzlu su hazırlanmıştır. Analizde kullanılacak olan yıkama solüsyonu, test kitindeki konsantre yıkama solüsyonunun deiyonize su ile 1:10 dilüsyonu şeklinde hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan ABTS (azino-di-ethylbenzthiazoline sulphonate) solüsyonu da avidin peroxidase konjugat inkübasyonu sırasında taze olarak hazırlanarak kullanılmıştır. Bunun için test kiti içerisinde çıkan konsantre ABTS peroxide citrate buffer 1:25 oranında karıştırılmıştır.

ELISA kiti ve reaktifler kullanılmadan önce tutuldukları 2-8°C'den çıkarılarak oda sıcaklığına getirilmiştir. Blank olarak seçilen kuyucuğa 100 µl normal tuzlu su ve seçilen diğer kuyucuklara sırasıyla 100 µl pozitif kontrol, % 1 pozitif kontrol ve örnekler konulmuştur. ELISA plak üzeri kapatılarak 60 dk oda sıcaklığına bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyucuklar yıkama solüsyonuyla cihazda (EL_x 50 Auto Strip Washer, Bio-Tek Inst., Inc.) üç kez yıkanmıştır. Aynı türün her bir kuyucuğuna 25 µl türe özgü anti-species biotinylate konulmuştur. Bu noktada konulan reaktifin, kuyucuğu tamamen örtmesine dikkat edilerek üzeri kapalı halde 60 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kuyucuklar yıkama

solüsyonuyla 3 kez yıkanmıştır. Sonra kuyucuklara 25 µl peroxidase conjugate konularak üzeri kapalı halde 30 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 6 kez yıkanmıştır. Kuyucuklara taze hazırlanmış çalışma ABTS solüsyonu 50 µl hacimde konulmuş ve üzeri örtülerek 30 dk oda sıcaklığına bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu ilave edilmiştir.

Hesaplama ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Ölçüm işlemi için plak, ELISA okuyucusuna (EL_X 808 Ultra Mikroplate Reader, Bio-Tek Inst., Inc.) yerleştirilmiş ve cihaz ortalama 414 nm (405-420 nm) dalga boyunda absorbands değerlerine programlanmıştır. Pozitif kontrol, % 1 pozitif kontrol, negatif kontrol ve örneklerin absorbandsları tespit edilmiştir. Kontrol ve örneklerin ortalama absorbands değerleri ve bunların standart sapmaları hesaplanmıştır. Absorbans değeri % 1 pozitif kontrolün ortalama absorbands değerine eşit veya daha yüksek olan örnekler pozitif olarak kabul edilmiş-

tir. Eğer örneğin absorbands değeri % 1 pozitif kontrolün ortalama absorbands değerinden daha düşük ise örnek negatif olarak değerlendirilmiştir (2).

BULGULAR

Çalışmada çiğ et ve et karışımı ile ısıl işlem görmüş et ürünlerinde ELISA ile yapılan analiz sonuçları Tablo 1’de verilmiştir. İncelenen toplam 116 örnekten 76’sının (% 65.5) sığır eti, 27’sinin (% 23.3) sığır / tavuk eti karışımı, 7’sinin (% 6.0) tavuk eti, 3’ünün (% 2.6) domuz eti, 2’sinin (% 1.7) at eti ve birinin (% 0.9) sığır / domuz eti karışımı olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ile örneklerin etiket bilgileri karşılaştırıldığında 18 (% 15.5) örneğin etiket bilgilerinden farklı et türlerini içerdiği saptanmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyanın birçok ülkesinde, et ve et ürünlerinin (sucuk, sosis, salam, pastırma vb.), üretiminde kullanılan etlerin hangi hayvan türüne ait olduğu-

Tablo 1. Örneklerde tespit edilen hayvan türleri ile etiket bilgilerinin karşılaştırılması

Örnek	Örnek sayısı (n)	Hayvan türü ve oranı (%)						Etiket bilgisinden farklı örnek sayısı ve oranı (%)
		Sığır	At	Domuz	Tavuk	Sığır ve Domuz	Sığır ve Tavuk	
Parça et	21	12 (57.2)	2 (9.5)	2 (9.5)	5 (23.8)	-	-	4 (19.0)
Hazır kıyma	21	18 (85.7)	-	-	-	1 (4.8)	2 (9.5)	3 (14.3)
Sosis hamuru	1	-	-	-	-	-	1 (100)	-
Köfte	21	15 (71.4)	-	1 (4.8)	1 (4.8)	-	4 (19.0)	5 (23.8)
Hamburger	10	7 (70.0)	-	-	1 (10.0)	-	2 (20.0)	-
Tas kebabı konserve	1	-	-	-	-	-	1 (100)	1 (100)
Döner	8	8 (100)	-	-	-	-	-	-
Sucuk	26	13 (50.0)	-	-	-	-	13 (50.0)	5 (19.2)
Salam	4	2 (50.0)	-	-	-	-	2 (50.0)	-
Rosto	1	1 (100)	-	-	-	-	-	-
Sosis	2	-	-	-	-	-	2 (100)	-
TOPLAM	116	76 (65.5)	2 (1.7)	3 (2.6)	7 (6.0)	1 (0.9)	27 (23.3)	18 (15.5)

nun belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, etin kaynağının belirlenmesi için çok sayıda değişik laboratuvar metotları geliştirilmiş ve bunların bir kısmı da gıda kontrol laboratuvarlarında resmi metot olarak kullanılmaya başlanmıştır (8).

Türk ve ark. (20) yaptıkları çalışmada, 223 adet et ve et ürünleri örneğinin 12'sinde (% 5.3) tek tırnaklı eti, 16'sında (% 7.1) domuz eti, 6'sında (% 2.6) ise tek tırnaklı / domuz eti karışımı tespit etmişlerdir. Bursa ve İstanbul bölgesindeki satış noktalarından alınan 410 et ve et ürünleri örneğinde yapılan bir çalışmada (9), örneklerden 396'sında (% 75) sığır eti, 85'inde (% 20.7) tavuk eti ve 14'ünde (% 4.3) at eti tespit edilmiştir. İncelenen örneklere ait etiket bilgileri değerlendirildiğinde ise, toplam 67 örneğin (% 1.3), üzerinde bulunan etiket bilgilerinden farklı hayvan türüne ait et içerdiği saptanmış, belirlenen bu örnekler ilave olarak etiketlerde varlığı bildirilmemiş hayvan türlerini de içeren toplam 79 (% 19.2) örneğin hileli olduğu bildirilmiştir (9). Ankara'da yapılan bir başka çalışmada (5) ise toplam 9 parça et ve 16 kıyma köftenin sırasıyla 2'sinin (% 22.2) ve birinin (% 6.3) farklı et türü içerdiği saptanmıştır. Isıl işlem görmüş et ürünlerini incelediklerinde sucuk örneklerinin % 39.2'sinin, salam örneklerinin % 35.7'sinin ve sosis örneklerinin ise % 27.2'sinin farklı et türü içerdiğini tespit etmişlerdir (5).

Amerika'da yapılan bir çalışmada (11), çiğ kıymaların % 15.9'unun, domuz sosislerinin % 22.5'inin hileli olduğu bildirilmiştir. Konu ile ilgili bir diğer çalışmada (10) Alabama'da satışa sunulan domuz kıyması örneklerinin % 90'ında, domuz sosis örneklerinin % 54'ünde hileli olarak kanatlı eti tespit edilmiştir. Çiğ et ve et karışımlarında hayvan türü tespitine yönelik araştırmaların ülkelere göre önemli farklılıklar gösterebileceği ve örneklerin temin edildiği satış noktalarının bulunduğu yer ve örneklerin satış fiyatları, aynı zamanda satışa sunulan noktalara yapılan denetimlerin yoğunluğu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (9).

Bu çalışmada elde edilen bulguların diğer araştırmacıların bildirdikleriyle benzerlikler gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu çalışmalardan farklı olarak 3 örnekte (% 2.6) domuz eti ve bir örnekte (% 0.9) sığır / domuz eti karışımı saptanmıştır. Bu durum Türk ve ark.'nın (20) bildirdiği değerlerden düşük olarak tespit edilmiştir. İki örnekte (% 1.7) at etinin tespiti, Uğur ve ark.'nın (9) yaptığı çalışmadaki % 4.3 lük at eti tespit değerinin gerisinde kalmıştır.

Etiket bilgilerine göre bir değerlendirme yapıldığında, kullanılan etlerde hayvan türü bakımından en çok tavuk etinin kullanıldığı tespit edilmiş olup, diğer araştırmacılar da benzer sonuçlar bildirmektedirler (5, 9, 10).

Sonuç olarak, insan tüketimine sunulan çiğ et ve et karışımı ile ısıl işlem görmüş et ürünlerinde farklı hayvan türlerine ait etlerin kullanıldığı saptanmıştır. İnsan sağlığı bakımından uygun olmayan bu ürünlerin tespitinin gıda kontrollerinin sıklaştırılması ve bu ürünlerin güncel metotlar ile hızlı bir şekilde incelenmesi ile gerçekleştirilebileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada gerekli laboratuvar altyapısının oluşturulması ve çalışmaların yürütülmesinde desteğini esirgemeyen Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Necdet AKKOCA ile Enstitü Müdür Yardımcısı Hasan AKTAR'a şükranlarımızı iletiriz. Ayrıca laboratuvar çalışmalarına destek olan yardımcı teknik personele de teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. **Andrews, C.D., Berger, R.G., Mageau, R.P., Schwab, B., Johnson, R.W.** (1992) *Detection of beef, sheep, deer and horse meta in cooked meat products by enzyme-linked immunosorbent assay*. J. AOAC Int., 75: 572-576.
2. **Anonymous.** (2008) *ELISA-TEK™ Cooked meat speciation kits*. Elisa Technologies, Inc., Florida, U.S.A. (<http://www.elisa-tek.com>)
3. **Arun, O.O., Uğur, M.** (1999) *Sosislerdeki etin orijininin belirlenmesinde pseudoperoksidaz boyama tekniğinin poliakrilamid jel izoelektrik odaklama (PAGIF) metodunda kullanılması*. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 23: 599-603.
4. **Aslan, A., İlhak, O.I., Calicioğlu, M.** (2006) *Effect of method of cooking on identification of heat processed beef using polymerase chain reaction (PCR) technique*. Meat Sci., 72: 326-330.
5. **Ayaz, Y., Ayaz, N.D., Erol, I.** (2004) *ELISA tekniği ile et ve et ürünlerinde tür tayini*. I.Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
6. **Berger, R.G., Mageau, R.P., Scwab, B., Johnston, R.W.** (1988) *Detection of poultry and pork in cooked and canned meat foods by enzyme-linked immunosorbent assays*. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71: 406-409.

7. **Billett, E.E., Bevan, R., Scanlon, B., Pickering, K., Gibbons, B.** (1996) *The use of a poultry specific murine monoclonal antibody directed to the insoluble muscle protein desmin in meta speciation.* J. Sci. Food Agric., 70: 396-404.
8. **Ekici, K., Akyüz, N.** (2003) *Farklı hayvan türlerine ait çiğ etlerin SDS-PAGE yöntemleriyle belirlenmesi üzerine bir araştırma.* Yüzüncü Yıl Üniv.Vet. Fak. Derg., 14 (2) : 78-82.
9. **Gunsen, U., Adın, A., Ovalı, B.B., Coskun, Y.** (2006) *Çiğ et ve ısıl işlem görmüş et ürünlerinde ELISA tekniği ile farklı et türlerinin tespiti.* İstanbul Üniv.Vet. Fak. Derg., 32 (2): 45-52.
10. **Hsieh, Y.H.P., Johnson, M.A., Wetzstein, C.J., Gren, N.R.** (1996) *Detection of species adulteration in pork products using agar-jel immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbentassay.* J. Food Quality, 19:1-13.
11. **Hsieh, Y.H.P., Woodward, B.B., Ho, S.H.** (1995) *Detection of species substitution in raw and cooked meats using immunoassays.* J. Food Protect., 58: 555-559.
12. **Ilhak, O.I., Arslan, A.** (2003) *Random amplified polymorphic DNA (RAPD) yöntemiyle sığır, koyun, keçi ve yabani domuz etinin ayırt edilmesi.* Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi, 17(1): 59-63.
13. **Ilhak, O.I., Arslan, A.** (2007) *Ratgele çoğaltılmış polimorfik DNA yöntemiyle kanatlı etlerinde tür tayini.* Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi, 21(4): 167-171.
14. **Ilhak, O.I., Arslan, A.** (2007) *Identification of meat species by polymerase chain reaction (PCR) technique.* Turk. J. Vet. Anim. Sci., 31(3): 159-163.
15. **Inal, T.** (1992) *Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü.* pp: 1-10, Final Ofset, İstanbul.
16. **Inal, T.** (1995) *Kesim Hayvanı ve Et Muayenesi.* pp: 5-14. Saray Medical Yayıncılık, İzmir.
17. **Martin, R., Wardale, R.J., Jones, S.J., Hernandez, P.E., Patterson, R.L.S.** (1991) *Monoclonal antibody sandwich ELISA fort the potential detection of chicken meat in mixture of raw beef and pork.* Meat Sci., 30: 23-31.
18. **Samarajeewa, U., Wei, C.I., Huang, T.S., Marshall, M.R.** (1991) *Application of immunoassay in the food industry.* Critical Rev. Food Sci. and Nutrition, 29: 403-434.
19. **Tezcan, I.** (1987) *Et Muayenesi.* pp: 1-12. Ankara Üniv. Vet. Fak., Teksir 87/1, Ankara.
20. **Türk, N., Kafa, B., Izan, Y.** (2005) *Et ve et ürünlerinde tür tayini.* Gıda Kongresi, Nisan 19-21, İzmir..

Yazışma Adresi:

Dr. Özhan TÜRKYILMAZ
Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü
35010 Bornova / İZMİR
e-mail: turkyilmazhan@gmail.com

OLGU RAPORU/CASE REPORT

AVIAN INFLUENZA A (H5N1) KIZIKSA-MANYAS / TÜRKİYE EKİM 2005

AVIAN INFLUENZA A (H5N1) IN KIZIKSA-MANYAS/ TURKEY ON OCTOBER 2005

Hanifi ERTURUN¹

Geliş Tarihi (Received): 25.07.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 16.09.2008

ÖZET

Bu olgu raporu, Türkiye’de; Balıkesir İli, Manyas İlçesi, Kızıksa Beldesinde 2005 yılında bir hindi sürüsünde yaşanan Avian influenza A H5N1 olgusu için hazırlandı. İşletmede 4.5 aylık yaşta 1800 adet hindi mevcuttu. Hayvanlar açıkta beslenmekteydi. Çiftlik göçmen kuşların önemli göç yolu üzerindeydi.

Ölüm görülen sürüden alınan hindiler; Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, İzmir-Bornova, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarında incelendi. Hayvanların iç organ örneklerinden virolojik muayene yapıldı. Organ örneklerinden hazırlanan inokulum, 13 günlük spesifik patojen free (SPF) embriyolu tavuk yumurtasının allantoik boşluğına ekildi. Ekim sonrası yirmidört saatlik kontrollerde embriyoların bazılarında ölüm görüldü ve muayeneye alındı. Bu yumurtaların allantoik sıvılarında hemagglütinasyon (HA) aktivitesi tespit edildi. Paramyxoviruslar, hemagglütinasyon inhibisyon (HI) testi kullanılarak elimine edildi. Avian influenza A virüs tiplendirmesinde 16 adet alt tip H panel antiserumları kullanılarak HI testi yapıldı ve virüsün Avian influenza A H5 alt tipi olduğu tespit edildi.

Teyit için izolat, VLA, Weybridge Enstitüsü, Avian Viroloji Laboratuvarı, İngiltere’ye gönderildi. Etkenin Avian influenza A H5N1 virüsü olduğu teyid edildi. Weybridge Enstitüsünce izolat; *Influenza A/ty/Turkey/1194/05 (H5N1 HPAI)* olarak kodlanarak kayıt altına alındı. Hastalık, hızlı teşhis ve alınan önlemler sayesinde çevreye ve ticari kanatlı sektörüne yayılmadan ilk odakta söndürüldü.

Bu olgu raporu ile Türkiye’de Avian influenza hastalığının ilk resmi bildirimini yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Avian influenza, hindi, Türkiye.

SUMMARY

This case report was prepared for Avian influenza A H5N1 outbreak in turkey flock in Kızıksa, Manyas, Balıkesir, Turkey in 2005. There were 1800 turkeys at the age of 4.5 months in the farm. Animals were free range. The farm was on a very important migration route of the wild migratory birds.

The dead animals of this flock were examined in Poultry Diseases Laboratory of İzmir-Bornova, Veterinary Control and Research Institute. Virological investigation was performed on organ samples from the diseased animals. The inoculum from organ samples was injected into the allantoic cavity of 13 days old specific pathogen free (SPF) embryonated chicken eggs. Some embryos died after 24 hours of inoculation. Although the dead embryos before 24 hours were not taken for evaluation, these embryos were examined for virus isolation. Haemagglutination (HA) activity of the allantoic fluid was determined. Paramyxoviruses were eliminated using haemagglutination inhibition (HI) test. Avian influenza A virus typing was done with 16 H subtype panel antisera and the virus was determined to be Avian influenza A subtype H5. The isolate was confirmed and typed by Weybridge Institute, as *Influenza A/ty/Turkey/1194/05 (H5N1 HPAI)*. The outbreak was put out at the first place without spreading to any other area.

This report is the first case report for Avian influenza A in poultry in Turkey.

Key Words: Avian influenza, turkey, Turkey.

GİRİŞ

Avian influenza; Fowl plague, Bird flue, Avian flue, Tavuk vebası, Kuş gribi gibi benzer isimlerle de anılan, göçmen kuşlarla dünyanın

değişik ölkelerine yayılan, evcil kanatlılarda ölüm- cül salgınlar yapabilen ve bu salgınlarda teması olan insanlara da bulaşabilen zoonoz karakterli bir hastalıktır (1, 2, 5, 21, 25). Kuşlarda ve diğer

¹ Uzm. Vet. Hekim, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR

kanatlılarda hastalık oluşturan tablo ilk defa, 1878 yılında, Perroncito isimli araştırmacı tarafından İtalya'da bildirilmiştir (3, 9, 18, 27). Hastalık etkeninin bir virüs olduğu 1901 yılında gösterilmiştir. İnfluenza virüsü; *Orthomyxoviridae* ailesinden, ortalama 80-120 nm (nanometre) çapında, yuvarlak, ipliksi yapıda, tek sarmallı, 8 segmentli bir RNA virüsüdür (9, 12, 18, 23, 27).

İnfluenza virüsleri nükleoproteinlerindeki antijenlere göre; A, B ve C tiplerine ayrılarak sınıflandırılmaktadır. İnfluenza A; kuşlar, ve memelilerde (insan, domuz, at, mink, deniz memelileri), İnfluenza B; insanda, İnfluenza C ise; insan ve domuzlarda hastalık oluşturlar (5, 6, 9, 27). İnfluenza A, kanatlı hayvanlarda Avian influenza hastalığına neden olmaktadır. İnfluenza A virüsü, bünyesindeki hemaglütinin (H) 1-16 olmak üzere 16 çeşit ve nörominidaz (N) 1-9 olmak üzere 9 çeşit enzimlerinin antijenik yapısına göre sınıflandırılıp isimlendirilir (17, 18, 28, 30).

Hastalık, tanımlanmasından itibaren günümüze kadar Asya, Avrupa, Amerika ve Afrika kıtalarında bulunan ülkelerin birçoğunda değişik boyutlarda salgınlar yapmıştır. Günümüzde, başta Uzakdoğu olmak üzere; Rusya, Kazakistan, Moğolistan, Türkiye ve Romanya'da salgınlara sebep olmuş zoonoz bir enfeksiyondur (1, 16, 19, 20, 21).

İtalya'daki ilk bildiriminden günümüze kadar Avian influenza A hastalığının varlığı bu vakaya kadar Türkiye'de resmi olarak rapor edilmemiştir (3, 6, 7). Bu olgu raporu ile Türkiye'de Avian influenza A hastalığının ilk resmi bildirim yapılmıştır (1, 2, 22, 29).

OLGU GELİŞİMİ

Hastalık tablosu, yılbaşında pazarlanmak amacı ile beslenen; Balıkesir İli, Manyas İlçesi, Kızıksa Beldesinde bulunan bir aile hayvancılığı işletmesine ait hindi sürüsünde görüldü. İşletmedeki 1800 başlık 4.5 aylık yaştaki, siyah ırk hindi sürüsü, Manyas gölüne 3 km uzaklıkta bulunan, 40 dekar büyüklüğünde, açık bir arazide yetiştirilmekteydi. Aynı zamanda, çeltik tarımı ve hayvancılık da yapılan bölge, göçmen kuşların Türkiye üzerinden geçişlerinde kullandıkları önemli bir göç yolu üzerinde bulunmaktaydı. Olgu materyallerini, yabani kuş temasına açık arazide beslenen bu hindi sürüsünden temin edilen toplam 8 ölü ve 1 canlı hindiye ait örnekler oluşturdu.

İlk ölümleri takiben, laboratuvara gönderilen 3 adet hindi başı, önce influenza hızlı teşhis kiti, BD Directigen™ Flu A test kit (Becton Dickinson Microbiology Systems-USA, Catalog no:256020) ile muayene edildi (8, 13, 25, 26). Test kiti, influenza A viral antijenlerini, hasta hayvanlara ait uygun materyallerden (orofaringeal bölge mukusu, burun boşluğu ve üst solunum yolu yıkantıları, dışkıları) direkt, hızlı şekilde (15 dakikada) kalitatif olarak tespit eden, in vitro antigen-capture enzyme immunoassay sistemidir. Kalıcı mor renk gelişimi pozitif, renk değişimi olmaması negatif olarak değerlendirilir. Orofaringeal mukozadan steril svapla alınan mukus materyalinin test prosedürüne göre muayenesi sonucu, influenza A antijeni yönünden pozitif sonuç alınması üzerine; ilgili İl Tarım Müdürlüğü, Havyan Sağlığı Şube Müdürlüğünden, laboratuvara yeni materyaller gönderilmesi istendi. Aynı zamanda, işletmedeki ölü ve canlı hayvanların; gübre, yem atıkları, tüy ve telek gibi her türlü virüs taşıyabilecek materyalinin tümünün acil olarak, herhangi bir yere taşınmadan, olduğu yerde gömülerek imha edilmesinin gereği ve önemi bildirildi. Yeni materyal talebi üzerine tekrar laboratuvara gönderilen 5 adet ölü ve 1 adet canlı hindi örnekleri sistematik olarak laboratuvar muayenelerine tabi tutuldu.

Canlı ve ölü hindilerin nekropsilerinde; makroskopik olarak Avian influenza yönünden tipik bir bulguya rastlanmadı. Bağırsaklar yeşilimsi renkte bir içerik ile doluydu ve lumenlerinde değişen sayıda askarit (*Ascaridia galli*) etkenleri mevcuttu. Canlı hindiden kan örneği ve nekropsi sonrası tüm hindilerden; orofaringeal svab, trakeal svab, trakea, beyin, akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve ince bağırsak içeriği örnekleri alındı (8, 9, 14, 15, 22). Hindilere ait beyinler bir arada, trakea ve akciğerler birlikte; dalak, karaciğer ve böbrekler beraber ve bağırsak içerikleri de bir grup olmak üzere bir araya getirilerek, 4 grup çalışma materyali oluşturuldu. Gruplanan materyallerin yarısı bakteriyolojik muayeneler için kullanıldı. Diğer yarısı da ikiye bölünerek, yarısı virolojik muayeneler için ayrıldı, diğer yarısı -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

Virolojik muayeneler için alınan doku parçaları, ultra turraks (Janke&Kunkel / Ultra- Turrax T-25, Germany) yardımı ile % 20 (w/v) oranında steril isotonic phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0-7.4) içerisinde homojenize edilerek antibiyotik

(penicillin 2000 IU/ml, streptomycin 2 mg/ml, gentamycin 50 µg/ml ve mycostatin 1000 IU/ml) ilavesi yapıldı. Bağırsak içeriğinden hazırlanan inokulum materyali için, antibiyotik konsantrasyonları 5 kat arttırıldı. Süspansiyon haline getirilen doku ve bağırsak içeriği örnekleri santrifüjde 1000 g de 10 dakika santrifüj edilerek çökteldi ve üstte kalan süpernatant virolojik muayenelerde inokulum olarak kullanılmak üzere alındı. İki saat 4⁰ C'de tutularak antibiyotik ve antimikotik etkimesine bırakıldı (4, 8, 23, 24, 27).

Hazırlanan inokulumlardan her bir organ grubu için altışar adet olmak üzere, SPF 13 günlük embriyolu tavuk yumurtalarının koriyoallantoik boşluklarına, 0.2 ml inoküle edildi. Altı adet embriyolu yumurta da herhangi bir inokülasyon yapılmaksızın kontrol olarak kullanıldı. Yumurtalar, kuluçka makinesinde (Çimuka/43C/H/İ-Türkiye) 37°C'de inkübe edildi. Ekim yapılan embriyolu yumurtaların; 12 saat sonra yapılan embriyo canlılık kontrollerinde canlılıklarının normal devam ettiği, 18 saat sonra yapılan kontrollerde, bazı embriyolarda anormallik başladığı ve 24 saat sonra yapılan kontrollerde ise ekim yapılan embriyolu yumurtaların % 30'unda embriyo ölümleri şekillendiği görüldü. Kontrol grubu embriyolarda, canlılık ve embriyonal gelişme normal olarak saptandı.

Embriyolu yumurta inokülasyonlarında; ilk 24 saatte gelişen ölümler nonspesifik kabul edilerek genellikle değerlendirilmezken, influenza hızlı teşhis kiti ile yapılan muayenelerde pozitif sonuç alındığı için ölü embriyolu yumurtalar, gecikmeye meydan verilmeksizin muayeneye alındı. Bu amaçla, ölü embriyolu yumurtalar hızla soğutulularak açıldı. Allantoik sıvıları her grup kendi içinde bir araya toplandı ve hemaglutinasyon aktivitesi yönünden kontrol edildi. Toplanan allantoik sıvıların hemaglutinasyon aktivitesi pozitif ve ortalama titreleri 1/128 bulundu. Teşhisin Newcastle hastalığı ile karışmasını önlemek için yapılan HI testi sonucu izolatin, Paramyxoviruslardan biri olmadığı belirlendi (4, 13, 15, 18, 24). Daha sonra, HI testi ile, Avian influenza A yönünden H tiplendirme işlemine geçildi. Avian influenza A virüsünün 16 adet H alt tip monovalan panel antiserumları kullanılarak yapılan H tiplendirmesi sonucu, izole edilen virüsün, H5 alt tipi olduğu tespit edildi (14, 16, 17, 18, 23).

Yumurta ekimlerini takiben 24 saatlik sürede virüs izolasyonu ve H tiplendirilmesi tamamlandı.

Bu olguda, nörominidaz (N) tiplendirmesi ve patojenite indeksi testleri yapılmadı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Şüpheli materyalin embriyolu yumurtaya inokülasyonundan 24 saat gibi kısa bir süre sonunda virüs izolasyonu ve tiplendirme çalışması tamamlanarak, etkenin Avian influenza A virüsü ve H5 tipi olduğu tespit edildi.

Enstitü Müdürlüğü sonuç ile ilgili bilgilendirildi. Hastalığın ihbarı mecburi hastalık olması nedeniyle, acil eylem planlarının bir an önce uygulamaya konması için Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğüne hastalık ihbarı yapıldı (22, 29).

Avrupa Birliği (AB) mevzuatına göre, Avian influenza A olarak izole edilen izolatin üye ve aday ülkelere sonuçlarının, AB referans laboratuvarlarının birisinde teyit ettirilme zorunluluğu vardır (12, 13). Bu amaçla, AB referans laboratuvarlarından olan İngiltere, Weybridge Enstitüsü, Avian Viroloji Laboratuvarına (*Veterinary Laboratories Agency (VLA)-Weybridge*) izole edilen virüs gönderildi. Teşhis teyid edildi ve virüsün amino asit dizilişi (PQGERRRKKRGLF), yüksek patojenik Avian influenza A olarak bildirildi (10). Virüsün HA geninin moleküler filojenik yapısının, A/Grebe/Novosibirsk/05 virüsü ile % 98.7 oranında benzer olduğu ve Rusya, Moğolistan ve Çin'de görülen virüslere çok benzediği bildirildi. Suş, VLA Weybridge Enstitüsünce: *Influenza A/ty/Turkey/ 1194/05 (H5N1 HPAI)* olarak kaydedildi. VLA Weybridge Enstitüsünün ek raporu ile de NA geninin moleküler filojenik yapısının, A/Great Black Headed Gull/Qinghai/1/05 virüsü ile % 99.6 aynı olduğu, Orta Asya ve Türkiye'deki virüslerin direkt bağlantılı olduğu ve virüsün İntravenöz Patojenite İndeksinin (IVPI) 3.0 olduğu bildirildi (11). Olgunun, laboratuvara ihbarı ile başlayan ve tüm aşamalarını içeren seyir süreci Tablo 1'de verilmiştir.

Avian influenza, İtalya'da 1878 yılında yapılan ilk bildiriminden sonra Dünya'da hayvan ve insanlarda salgınlar yapmaya devam etmektedir. Salgınlar, dönem dönem azalma ve artma eğilimi göstermektedir (5, 12, 19, 20, 25). Bu olgu raporuna kadar, Türkiye'de resmi olarak Avian influenza A hastalığı rapor edilmemiştir (3, 6, 7). Bu olgu ile Avian influenza A hastalığının Türkiye'de ilk resmi bildirimini yapılmıştır (18, 25, 28, 29).

Tablo1. Avian influenza A (H5N1) Kızıksa-Manyas/Türkiye Ekim 2005 olgusu seyir tablosu.

Tarih Ekim 2005		Yapılan İşlemler
Gün	Saat	
01	-	Sürüde bazı hayvanlarda iştahsızlık, durgunluk ve geride kalma belirtileri başlamış.
02	-	Birkaç adet hindi ölmüş.
03	-	40-50 adet hindi ölmüş. Toksikasyondan şüphelenilerek sahibince tedavi amaçlı amprik uygulama yapılmış.
04	-	Amprik uygulamanın ardından ölümler şiddetlenmiş, 1000 adet hindi ölmüş.
05	-	Hastalık tablosu, bölgede çalışan Veteriner Hekimlere bildirilmiş. Bir Veteriner Hekim konuyu Bandırma İlçe Tarım Müdürlüğüne bildirmiş.
	14:30	İlçe Tarım Müdürlüğü tarafından, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarından bölgeye Uzman Veteriner Hekim talep edildi.
	14:45	Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı, Enstitü Müdürlüğünü bilgilendirdi.
	15:00	Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarınca, Balıkesir İl Tarım Müdürlüğü, Hayvan Sağlığı Şube Müdürlüğü ile temasa geçilip olay hakkında bilgi alındı.
	16:30	Bandırma İlçe Tarım Müdürlüğü, vaka materyallerini Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne göndermek için özel kurye çıkardı.
	21:00	Gönderilen materyal, 3 adet hindi başı (alt çeneleri yok kesilmiş durumda) ve 10 adet hindi kanından oluşan vaka materyalleri laboratuvara geldi.
	21.30	Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarında ilk muayene yapıldı. İnfluenza hızlı teşhis kiti ile pozitif sonuç alındı. Laboratuvarca, Balıkesir İl Tarım Müdürlüğü, Hayvan Sağlığı Şube Müdürlüğü aranarak sistematik muayene yapabilmek için acilen yeniden materyal istendi (3 canlı, 3 ölü hindi). Hastalık tablosunun Avian influenza hastalığı yönünden şüpheli durum gösterdiği bildirildi. Laboratuvara gönderilecek hayvanların alınmasından sonra, çiftlikteki tüm hayvanların hiçbir yere taşınmadan acilen gömülerek imha edilmesi ve alanın geniş bir şekilde dezenfekte edilmesi önerildi.
	22:30	Hayvan Sağlığı Şubesinde işletmeye gidilerek alınan 3 adet canlı ve 3 adet ölü hindi materyali resmi araç ile doğrudan laboratuvara gönderilmek üzere yola çıkarıldı.
06	03:30	Hindi materyalleri Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne ulaştı.
	08:30	Hindilerin muayene ve otopsi işlemlerine başlandı.
	11:00	Muayene işlemleri tamamlandı. Hızlı teşhis kiti ile yapılan muayenede Avian influenza yönünden pozitif sonuç alındı. Virolojik muayene amacı ile iç organ örneklerinden inokulum hazırlandı. Bakteriyolojik ekimler yapıldı.
	12:00	Kızıksa'da Balıkesir İl Tarım Müdürlüğü, Hayvan Sağlığı Şube Müdürlüğü'nce ölü ve canlı hayvanların imha işlemi tamamlandı. Hayvanların bulunduğu arazi ve çevresine yoğun dezenfeksiyon uygulandı.
	16:30	Virolojik muayene amacı ile embriyolu tavuk yumurtalarına ekim yapıldı.
07	08:30	Bakteriyel üreme görülmedi. Ekim yapılan embriyolu yumurtalar canlılık kontrolünde normal görünüşteydi.
	12:00	Embriyolu yumurtaların kontrolünde, bazı embriyolarda canlılık kontrolleri normal değildi. Sağlıksız tablo başladı.
	15:30	Embriyolu yumurtaların bazılarında ölüm şekillendi (%30). Ölen embriyolar hızla soğutulmaya alındı.
	16:30	Soğutulan embriyolar açıldı ve koriyoallantoik sıvıları toplandı.
	17:00	Sıvıların HA aktivitesi pozitif, titres 1/128 bulundu. HI testi ile Paramyxovirus olmadığı belirlendi.
	17:30	Avian influenza A yönünden tiplendirme çalışmasına geçildi.
	19:00	Tiplendirme çalışması sonuçlandı. Virüsün, Avian influenza A H5 alt tipi olduğu tespit edildi. Enstitü Müdürlüğü bilgilendirildi.
19:30	T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğüne (07/10/2005 tarih ve 250.V.35.00.26-KHL-299-5686 sayılı rapor) telefon ve e-mail ile hastalık ihbarı yapıldı	
08	09:00	Manyas ilçesine gidilerek Lokal Kriz Merkezi çalışmalarına katılındı.
10	-	İzolat, Topluluk Referans Laboratuvarına (İngiltere, Weybridge, Avian Viroloji Laboratuvarı) gönderildi.
13	10:30	VLA Weybridge Enstitüsünden teyit sonucu, 13 th October 2005 tarih ve AV1194/05 referans numaralı raporla alındı. Teyid sonucu; virusun, Avian influenza A H5N1 HPAI olduğu bildirildi. Suş: <i>Avian influenza A/ty/Turkey/1194/05 (H5N1 HPAI)</i> olarak kaydedildi.

Olgunun hızlı ve erken teşhis edilebilmiş olması, virüs izolasyon çalışması sonuçlanmadan yapılan hızlı testler ile pozitif sonuç alınması ve virüs izolasyonunun sonuçlandırılması beklenmeden, klinik tablo ve ön muayeneler birlikte değerlendirilerek varılan sonuçla mevcut durumun önem ve ciddiyeti de dikkate alınarak, odak olan bölgedeki ölü ve canlı hayvanların süratle imha edilmesi ve çevrenin yoğun dezenfeksiyona tâbi tutulması sonucu hastalık ilk olguda yok edilebilmiştir. Bu olgudan sonra aynı yıl içinde çevrede ikinci bir Avian influenza vakası görülmemiştir (22). Bu yöre Türkiye'nin en yoğun entansif kanatlı yetiştiriciliği yapılan önemli bir bölgesidir. Bu mücadelede; Özel Sektör ve Devlet Kurumları çok iyi bir ortak çalışma örneği göstermişlerdir. Olgunun başından sonuna kadar birlikte ve koordineli çalışma sayesinde, hastalık bölgede ikinci bir odak haline gelmeden söndürülebilmiştir.

Sonuç olarak; bu olgu ile Türkiye'de Avian influenza hastalığının ilk resmi bildirimini; Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, İzmir-Bornova, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarının; 07/10/2005 tarih ve 250.V.35.00.26-KHL-299-5686 sayılı raporu ile yapılmıştır. Ancak; virüs, konakçıları, ekolojisi ve genetik yapısı göz önünde bulundurulduğunda bu olgunun son olmayacağı, salgınlarla her zaman karşılaşılabilirliği açıktır. Başarılı olmadaki en önemli kriter; paniğe kapılmadan, salgınlara karşı her zaman hazırlıklı olmak ve bunun gereklerini yerine getirmektir. Tüm iletişim araçları kullanılarak halkın hastalık konusunda bilinçlendirilmesi hastalıkla mücadelede son derece yararlı olacaktır. Bu olguda hastalık, kanatlı sektörüne bulaşmadan söndürülebilmiştir. Türkiye, bu konuda başarılı bir sınav vermiştir.

TEŞEKKÜR

Bu olguda, materyalin sahadan alınıp Bandırma İlçe Tarım Müdürlüğüne ulaştırılmasını sağlayan Veteriner Hekim Kağan ÇUBUKÇU'ya, vakit kaybetmeksizin, Avian İnfluenza Referans Laboratuvarına büyük bir duyarlılıkla materyallerin ulaştırılmasını sağlayan Bandırma İlçe Tarım Müdürü Osman Nuri KALE'ye, Balıkesir Hayvan Sağlığı Şube Müdürü Vet. Hekim Dr. Mesut FİLİZCİLER'e, Laboratuvar çalışma arkadaşlarım; Uzm. Vet. Hekim Hüseyin ATİK, Biyolog Fatma Belgin AŞIKLAR, Laborant Suat GÜLTEKİN ve yardımcı personellerimiz Huriye ÇAKIR ile Muzaffer

BAŞARAN'a, olgu çalışmalarında işbirliğini ve yardımlarını esirgemeyen bölgedeki kanatlı sektör kuruluşlarına, izolatin teyit işlemleri aşamasında yardımlarından dolayı İngiltere VLA Weybridge Enstitüsü'nden Dr. Ruth MANWELL ve Dr. Ian BROWN'a gösterdikleri yardım ve işbirliğinden dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Ak, S. (2006) *Avian influenza infeksiyonunun dün ve bugünü*. Cerrahpaşa Tıp Derg., 37: 67-75.
2. Akan, M. (2006) *Kuş gribi*. 1.Türkiye Zoonotik Hastalıkları Sempozyumu 14-15 Kasım. Erişim: <http://www.tvhb.org.tr/bilimsel/09.doc>.
3. Akat, K. (1971) *Tavuk Vebası*. 254-257. Atılğan, T., Erkut, H.M., Yeşilada, İ. (Editörler): Tavuk Hastalıkları. Bornova Vet. Kontr. Araşt. Enst. Derg., Sayı: 20-21, Birlik Matbaası, Bornova.
4. Akat, K., Mayılmalı, A. (1971) *Newcastle Hastalığı*. 217-253. Atılğan, T., Erkut, H. M., Yeşilada, İ. (Editörler): Tavuk Hastalıkları. Bornova Vet. Kontr. Araşt. Enst. Derg., Sayı: 20-21, Birlik Matbaası, Bornova.
5. Alexander, D.J. (2000) *A review of avian influenza in different bird species*. Vet. Microbiol., 74: 3-13.
6. Arda, M., Minbay, M., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M. (1990) *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*. pp:127-129. Pfizer İlaçları. A.Ş. Ortaköy-İstanbul.
7. Başkaya, H., Minbay, A. (1981) *Kümes Hayvanları Hastalıkları*. pp: 158-159. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay. 379. Ders Kitabı: 277. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.
8. Beard, C.W. (1975) *Avian influenza* 174-181. In: Hitchner, S.B. (Ed): Isolation and identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists. Dep. Vet. Microbiol. Texas A&M Univ. College Station, Texas. 77843.
9. Branson, W.R, Carter K. (1995) *Orthomyxoviridae*. 351-364. In: Harrison, L. R. (Ed): Avian Viruses: Function and Control. Wingers Publishing, Inc. Lake Worth, Florida.
10. Brown, I. (2005) Türkiye'de ilk izole edilen Avian influenza A virüsü teyid raporu. 13th October 2005, Ref AV1194/05. Avian Virology, Veterinary Laboratories Agency-Weybridge, UK.
11. Brown, I. (2005) Türkiye'de ilk izole edilen Avian influenza A virüsü moleküler filojenik yapısı raporu. 19th October 2005, Ref AV1194/05. Avian Virology, Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, UK.
12. Capua, I., Alexander, D. J. (2004) *Avian influenza-recent developments*. Avian Pathol., 33: 393-404.

13. **Cattoli, G., Drago, A., Maniero, S., Toffan, A., Bertoli, F., Fassina, S., Terregino, C., Robbi, C., Vicenzoni, G., Capua, I.** (2004) *Comparison of three rapid detection system for type A influenza virus on tracheal swabs of experimentally and naturally infected birds.* Avian Pathol., 33 (4): 432-7.
14. **Council of the European Communities** (1992) *Introducing Community measures for the control of avian influenza.* Council Directive 92/40/EEC of 19th May 1992. Off. J. Eur. Communities, L167, 1-15.
15. **Council of the European Communities** (1992) *Introducing community measures for the control of newcastle disease.* Council Directive 92/66/EEC of 14 July. Off. J. Eur. Communities, L 260, 1-26.
16. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)** (2004) *FAO/OIE/WHO Technical consultation on the control of avian influenza. Animal health special report.* 3-4 February.
17. **Fouchier, R.A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T.M., Herfst, S., Smith, D., Rimmelzwaan, G.F., Olsen, B. Osterhaus, A.** (2005) *Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls.* J. Virol., 79: 2814-22.
18. **Harder, C.H., Werner, O.** (2006) *Avian influenza.* In: Kamps, B.S., Hoffmann, C., Preise, W., (Eds): *Influenza report.* 48-87.
19. **Kwon, Y.K., Joh, S.J., Kim, M.C., Sung, H.W., Lee, Y.J., Choi, J.G., Lee, E.K., Kim, J.H.** (2005) *Highly pathogenic avian influenza (H5N1) in the commercial domestic duck of South Korea.* Avian Pathol., 34: 367-370.
20. **Lee, C.W., Swayne, D.E., Linaers, J.A., Sene, D.A., Suarez, D.L.** (2005) *H5N2 avian influenza outbreak in Texas in 2004: the first highly pathogenic strain in the United States in 20 years.* J. Virol., 79: 11412-21.
21. **Liu, J., Xiao, H., Lei, F. et al** (2005) *Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds.* Science, 309: 1206.
22. **OIE** (2005) *Highly pathogenic avian influenza.* OIE Ref: 5307, Report Date: 13/10/2005, Turkey.
23. **OIE** (2007) *Newcastle Disease* In: *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals.* Chapter 2.1.15. Erişim: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00038.htm.
24. **OIE** (2007) *Avian Influenza* In: *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals.* Chapter. 2.7.12. Erişim: http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_chaptire_2.7.12.htm.
25. **Öner, A.F.** (2007) *Kuş gribi.* Türk Ped. Arş., 42: 46-51.
26. **Slemons, R.D., Brugh, M.** (1998) *Rapid antigen detection as in aid in early diagnosis and control of avian influenza.* 313-317. In: Swayne D. E., Slemons, R. D., (Eds): *Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia, USA, U.S. Animal Health Association.*
27. **Swayne, D.E., Halvorson, D.A.,** (2003) *Influenza.* 135-160. In: Saif, Y.M. (Ed): *Diseases of Poultry.* 11 th ed. Iowa State University Press. Ames, USA.
28. **WHO-Expert Committee** (1980) *A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO memorandum.* Bull. WHO, 58: 585-591.
29. **WHO** (2006) *H5N1 avian influenza: timeline.* 15 February. Erişim: www.who.int/csr/disease/avian_influenza/timeline.pdf
30. **WHO** (2006) *Avian influenza ("bird flu")-Fact sheet.* Erişim: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/avian_influenza/en/.

Yazışma Adresi:

Uzman Vet. Hek. Hanifi ERTURUN
 Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü
 35010 Bornova / İZMİR
 e-mail: herturun@yahoo.com

OLGU RAPORU/CASE REPORT

BİR KOYUN SÜRÜSÜNDE TETANOZ OLGUSU

A TETANUS CASE IN A SHEEP FLOCK

Seza ESKİİZMİRLİLER¹ Serra TUNALIGİL² Mehmet ÖZDEN² Lütfi AVSEVER³

Geliş Tarihi (Received): 30.10.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 17.12.2008

ÖZET

Tetanoz, tüm çiftlik hayvanlarında genelde sporadik vakalar olarak görülmesine rağmen koyun ve keçilerde genellikle kastrasyon, kulak küpelemesi, kuyruk kesimi, boynuzların köreltilmesi, kırkım gibi işlemler sırasında oluşan yaraların kontaminasyonu ile ortaya çıkan bir enfeksiyondur. Bu yazıda, Aydın iline bağlı bir köyden Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne tetanoz şüphesiyle getirilen 2 adet hasta koyunda tespit edilen tetanoz vakası sunulmuş ve tetanoz için literatür gözden geçirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Koyun, küpeleme, tetanoz.

SUMMARY

Although it is usually seen as sporadic cases in domestic animals, tetanus is an infection that occurs in goats and in sheep with the contamination of wounds that happen as a result of castration, ear tagging, tail docking, dehorning and shearing. In this article, a tetanus case detected in two sheep brought to Bornova Veterinary Control and Research Institute from a village in Aydın province is presented and some tetanus related articles are reviewed.

Key Words: Ear tagging, sheep, tetanus.

GİRİŞ

Tetanoz, tüm evcil hayvanların *Clostridium tetani* nörotoksini nedeniyle ortaya çıkan, akut, çoğu zaman öldürücü toksik bir hastalığıdır (2, 4, 8). Tetanoz semptomları bütün hayvanlarda aynıdır. Bu hastalık, tüm çiftlik hayvanlarında genelde sporadik vakalar olarak görülmesine rağmen, genç sığır, domuz ve kuzularda bazen salgınlar halinde de ortaya çıkabilmektedir (10, 12). Başlıca semptomlar, kasların kronik veya tetanik spazmlarıdır. Bu spazmlar, bazen vücutta enfekte yaranın lokalize olduğu yerden başlar, zamanla tüm vücudu kaplar. Hastalık, *C. tetani* sporlarının anaerobik bir ortamda (örneğin nekrotik bir yarada) lokalize olması ve toksin üreten vegetatif forma dönüşmesi sonucu ortaya çıkar (8). Dirençli sporlar, çevrede, özellikle toprakta bulunurlar. Hayvan ve insanlarda tetanozun oluşabilmesi, sporların germinasyon sonu vegetatif şekle dönüşmesi, üreyen mikroorganizmanın tetanospozmin denilen neurotoksin oluştur-

ması ve oluşan bu toksinin sinir sistemini etkilemesine bağlıdır. Ancak mikroorganizmanın gelişip, hastalık semptomlarının oluşabilmesi için anaerobik bir ortam olmalıdır. *C. tetani*'nin üreyip, gelişmesinden sonra oluşturduğu toksin, enfeksiyon alanından, motor sinirlerin intranöral doku boşluklarına ilerler ve oradan merkezi sinir sisteminin interstisyel sıvısına ulaşır ve sinirlerin fonksiyonlarını bozar. Toksinlerin amino asit dizisi ve protein yapısı üzerine yapılan çalışmalarda, *C. tetani* ile *C. botulinum* nörotoksinlerinin ortak bir atadan evrimleştiği ortaya konmuştur (11).

C. tetani toksinine evcil hayvanların gösterdiği duyarlılık düzeyleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Kedi ve köpekler toksine daha dirençli iken, atlar çok duyarlıdır. Kedi ve köpeklerde tetanoz genellikle lokalize seyretse de generalize tetanoz vakaları da görülebilmektedir (2, 6, 7). Tetanoz hastalığında genel klinik belirtiler, kas spazmları, koordinasyon eksikliği, yürümede den-

¹ Dr. Uzm. Vet. Hekim, Bakteriyoloji Bölümü, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR.

² Veteriner Hekim Bakteriyoloji Bölümü, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR.

³ Dr. Bakteriyel Balık Hastalıkları Teşhis Lab. Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR.

gesizlik ve palpebrae tertia'nın prolabe olması sonucu gözü devamlı örtmesidir. Atlarda kulaklar dik, kuyruk katı ve uzatılmış, burun delikleri genişlemiş, duruş dik ve katıdır. Domuzlarda ise sırt kamburlaşır, vücut kaslarında sertleşme ve kasılmalar görülür (4). Koyun ve keçilerde ilk semptomlar bacakların sertleşmesi, dik durma ve yürümede zorluktur. Koyun, keçi ve domuzlar genellikle yere düşerler ve uyarımlara opistotonus ile yanıt verirler. Koyunlar, sığırlara göre tetanoza daha duyarlıdır (8). Koyun ve keçilerde tetanoz, kastrasyon, kulak küpelemesi, kuyruk kesimi, boynuzların köreltilmesi, kırkım gibi işlemler sırasında oluşan yaraların kontaminasyonu ile ortaya çıkar (1, 4). İnkübasyon süresi 3 gün ile 3 ay arasında değişiklik gösterir. İran'da kuzularda ortaya çıkan bir tetanoz salgını incelenmiştir (5). Bu salgında, 19 kuzu tetanoz belirtileri göstermiş, bunlardan on sekizi ölmüştür.

Tedavide yüksek dozda antitoksin ve penisilin uygulanır. Prognoz, çoğu zaman kötüdür. Bu nedenle korunma çok daha öncelikli ve önemlidir. Hayvanların hastalıktan korunmasında öncelikle dikkat edilmesi gereken, en basit yaraların bile temizlenip, tedavi edilmesidir. Hastalık gelişip, tetanoz semptomları görüldükten sonra antitoksin verilmesinin pek yararı olmaz.

Tetanoz vakalarında tanı, bakteriyoskopi, kültür metotları, hayvan deneyi ve farelerde toksin nötralizasyonu ile konulur. Hastalık striknin zehirlenmesi, kuduz ve eklemespa ile karışabilmektedir. Bu nedenle ayırıcı tanıda, başka nedenlerle oluşabilecek toksikasyonların ve hastalıkların belirlenmesi önemlidir (4).

OLGU GELİŞİMİ VE BULGULAR

Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne 22.05.2007 tarihinde Aydın iline bağlı bir köyden tetanoz şüphesiyle 2 hasta koyun getirilmiştir. Yetiştiriciden alınan anamnezde koyunlarda küpeleme çalışmasından 15 gün sonra ölümlerin gerçekleştiği, 215 koyunun sirayete maruz kaldığı ve bunlardan 188 koyunun hastalandığı, 20 koyunun öldüğü ve 7 koyunun iyileştiği bildirilmiştir. Hasta koyunların gösterdiği semptomlar; kasılma, titreme, ağızdan köpük gelmesi, timpani, çene kilitlenmesi olarak belirtilmiş, hastalara penisilin ve tetanoz antiserum tedavisi uygulandığı ifade edilmiştir. Koyunların klinik muayenesinde anamnez bilgileri teyit edilmiş, özellikle boyun kasları ve eklemlerdeki kasılmalar gibi tetanoz için tipik bulgular gözlemlenmiştir.

Kulak küpelerinin bulunduğu bölge dışında hayvanlarda bir yara görülmemiştir. Koyunların her ikisi de hayvan sahibinin isteği üzerine nekropsiyeye alınmıştır (1).

Bakteriyolojik Bulgular: İlk olarak yaralı kulak dokusundan gram, giemsa ve metilen mavisi boyamaları ile yapılan bakteriyoskopide, *C. tetani* için tipik, davul tokmağı şeklinde terminal veya subterminal sporlu gram pozitif basiller görülmüştür. Kültür için yine yaralı kulak dokusundan kanlı (CM0055, Oxoid) ve MacConkey agar (CM0007 Oxoid) ile kıymalı buyyon besiyerlerine (Cooked Meat Medium) ekim yapılmıştır. 37 C°'de anaerobik ve areobik koşullarda 48 saat inkübasyon sonrası, kanlı ve MacConkey agarda aerobik ortamda üreme görülmezken, kıymalı buyyonda kararma tespit edilmiştir (4, 9). Yapılan gram boyamada çok sayıda *C. tetani* için tipik, davul tokmağı şeklinde terminal veya subterminal sporlu gram pozitif basiller görülmüştür. Kıymalı buyyondan kanlı agara tekrar ekim yapılarak, 37°C'de anaerobik koşullarda 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, petri yüzeyinde şekillenmiş olan yaygın üremelerden yapılan boyamalarda tipik davul tokmağı görüntüsünde terminal ve subterminal sporlu tetanoz basilleri gözlenmiştir. Kanlı agardaki yaygın üremenin kenarlarındaki saf koloniden tekrar kıymalı buyyona ekim yapılmış ve 5 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra elde edilen kültürden yapılan boyamalarda da tipik özellikler gösteren sporlu gram pozitif basiller görülmüştür (Şekil 1). Elde edilen kültür, Mini API bakteri tanımlama sistemi (Biomérieux) yardımı ile değerlendirilmiştir.



Şekil 1. Kıymalı buyyondan yapılan Giemsa boyama.1000X.

Toksin İdentifikasyonu İçin Hayvan Deneyi Çalışmaları: Çalışmada kıymalı buyyondan elde edilen saf kültür ile farelerde toksin demonstrasyon

ve nötralizasyon deneyi yapılmıştır (6). Bu amaçla üç grup fare ile çalışılmıştır. İlk gruptaki üç fareye 500 ünite intraperitoneal tetanoz antitoksini (3) enjekte edilmiş ve iki saat sonra antiserum uygulanan grup ile ve antiserum uygulanmamış gruba, kıymalı buyyondaki kültürden 0.2 ml kuyruk yanına kas içi olarak enjekte edilmiştir. Kontrol grubundaki farelere de aynı bölgeye steril serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 24 saat sonra 3 grup fare gözlemlenmiş ve sonuçlarla ilgili değerlendirme yapılmıştır. Kontrol grubundaki ve antiserum verilmiş farelerin yaşadığı tespit edilmiş, kıymalı buyyon kültürü enjekte edilen farelerde tetanoz belirtileri saptanmıştır. Bu farelerdeki belirtiler; ilk olarak kuyruk sertleşmesi olarak görülmüş, sonra bu sertliğin enjeksiyon yerine yakın olan bacağa yayılarak felç oluşması, hayvanın dış uyarılara karşı tonik konvülsiyonları ve ölüm olarak gözlemlenmiştir (Şekil 2). Bu gruptaki farelerin enjeksiyon bölgelerindeki kaslardan yapılan bakteriyoskopide, *C. tetani* için tipik basiller görülmüştür.



Şekil 2. Hayvan deneyinde kültür enjekte edilen farenin 24 saat sonraki görünümü.

TARTIŞMA

Eldeki klinik bulgular, lezyonlu dokulardan *C. tetani*'nin izolasyonu ve toksin demonstrasyon ile nötralizasyonu sonuçlarına dayanarak olgunun tetanoz olduğu sonucuna varılmıştır.

Yetiştirici anamnezinde, olguların kulak küpelemesinden 15 gün sonra geliştiğini bildirmesi koyun ve keçiler ile ilgili literatürdeki (1, 2, 5, 10) tetanoz olguları ile benzerlik göstermektedir. Küpeleme sonucu oluşan yaranın üzerini kaplayan kan pıhtısının, *C. tetani*'nin gelişimi için gerekli anaerobik koşulları sağlayabileceği düşünülmektedir.

Koyunların küpeleme işleminde; küpelerin, numara yukarı gelecek şekilde kulağın üst kenarına

doğru ve aşağıdan kulağın 1/3'lük kısmı boş bırakılarak uygulanması ve kontaminasyon olmadan yerleştirilebilecek hafif yapıda olmaları gerektiği bildirilmiştir (5).

Tetanoz çiftlik hayvanlarında genellikle sporadik vakalar olarak görülmektedir. Brezilya'da 2007 yılında *C. tetani* ile kontamine antihelmentik uygulamasını takiben 297 sığır ve 50 koyunun öldüğü ve sürünün anamnezinde, enfeksiyon öncesi sürüye tetanoza karşı bir aşılama yapılmadığı bildirilmiştir (8).

Bazı kaynaklarda (1, 5), aşılamanın hastalığın önlenmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir. Kuzulamadan önce bir doz, kuzulamadan sonra iki doz aşılama yapılmasının yararlı olabileceği bildirilmiştir (1).

Bu çalışma sonucu, koyunlarda belirtilen bulgularla karakterize olaylarda tetanozun göz önünde bulundurulması gerektiğini bir kez daha göstermiştir. Genelde sporadik vakalar halinde seyreden enfeksiyonun bazen sürüde yaygın ölümlere neden olabileceği bilindiğinden ana ve yavruların aşılması, uygun kulak küpeleri seçilerek, bunların doğru uygulanması ve küpeleme sonrası hijyen kurallarına dikkat edilmesi hastalığın önlenmesinde büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Anon (1996) *Livestock Health: Tetanus in sheep and goats*. [<http://www.dpi.qld.gov.au/sheep/8584.htm>] Erişim tarihi: 25.06.2008
2. Anon (2008) *Tetanus*. [<http://www.merckvetmanual.com/mvm/bc/50715.htm>] Erişim tarihi: 28.06.2008
3. Anon (2007) *Tetanea. Equine Tetanus Immunglobulins F(ab')₂ Fragments*, Aventis Pasteur.
4. Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Akay, Ö. (1999): *Özel Mikrobiyoloji*. pp.243-248. Medisan Yayınevi, Ankara.
5. Aslani, M.R., Bazargani, T.T., Ashkar, A.A., Movasaghi, A.R., Raoofi, A., Atiabi, N. (1998) *Outbreak of tetanus in lambs*. Vet. Rec., 142 (19): 518-519.
6. Bilgehan, H. (2000): *Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. s. 364- 377, 10. basım, Şafak Matbaacılık San.Tic. Ltd.Şti., Ankara.
7. De Risio, L., Gelati, A. (2005) *Tetanus in the cat: an unusual presentation*. J. Feline Med., 5 (4): 237-240.

8. **Driemeier, D., Schild, A.L., Fernandes, J.C.T., Colodel, E.M., Correa, A.M.R., Cruz, C.E.F., Barros, C.S.L.** (2007) *Outbreaks of tetanus in beef cattle and sheep in Brazil, associated with disophenol injection.* J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med., 54 (6): 333-335.
9. **Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter G.R.** (1999) *Clinical Veterinary Microbiology.* pp: 196-198. Mosby Ltd., USA.
10. **Radostits, O.M., Blood D.C., Gay C.C.** (1994) *Veterinary Medicine,* 8th edition. pp: 677-683. Bailliere Tindall, London.
11. **Raffestin, S., Marvaud, J.C., Cerrato, R., Dupuy, B., Popoff, M.R.** (2004) *Organization and regulation of the neurotoxin genes in Clostridium botulinum and Clostridium tetani.* Anaerobe, 10: 93-100.
12. **Ramsay, W.R.** (1973) *An outbreak of tetanus-like disease in cattle.* Aust. Vet. J., 2 (49): 188-189.

Yazışma Adresi:

Dr. Uzman Vet. Hek. Seza ESKİİZMİRLİLER
Bakteriyoloji Bölümü,
Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü
35010 Bornova / İZMİR
e-mail: sezanerim@yahoo.com

DERLEME/REVIEW

LABORATUVAR HAYVANLARINDA KAN ALMA TEKNİKLERİ

REMOVAL TECHNIQUES OF BLOOD FROM LABORATORY ANIMALS

Mustafa İSSİ¹

Geliş Tarihi (Received): 18.06.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 07.08.2008

ÖZET

Son yıllarda laboratuvar hayvanlarının bilimsel araştırmalarda kullanılması yaygınlaşmıştır. Deney hayvanlarından kan alımı en yaygın prosedürlerden biridir. Stres ve ağrı oluşturulmadan veya en aza indirilerek kan alınması deneysel çalışmaların kalitesini etkileyen önemli bir faktördür. Bu derleme, laboratuvar hayvanlarında çalışacak araştırmacılar için faydalı olacağı düşünceyle kan ve örnek alma teknikleri hakkında son literatürlerin ışığında yeni bilgiler sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Laboratuvar hayvanları, kan alma.

SUMMARY

In recent years, the use of laboratory animals in the scientific investigations has become widespread. Removal of blood from laboratory animals is one of the most common procedures. Taking blood without pain and stress or with the minimized pain and stress is an important factor affecting the quality of the experimental studies. This review presents the recent data on removal techniques of blood in the light of literature for the researchers working on laboratory animals.

Key Words: Blood removal, laboratory animals.

GİRİŞ

Laboratuvar hayvanlarından kan alımı en yaygın prosedürlerden biridir. Hayvan refahı açısından ve stres altında kan alma tekniği hematolojik ve biyokimyasal parametreleri büyük oranda etkilediğinden uygun bir tekniğin belirlenmesine ihtiyaç vardır (2, 4, 6, 7, 9). Özellikle hayvan tespit edilirken oluşturulan aşırı stres, hematokrit ve akyuvar sayısında artışa neden olur. Stres durumunda glikoz normalin 2 katı kadar yükselebilir ve bazı hormonlar da değişebilir (4, 7, 9).

Laboratuvar hayvanlarından çeşitli amaçlar için değişik miktarlarda ve farklı bölgelerden kan alınmaktadır (4, 7, 9). Kan alma yönteminin seğimi; kan alma amacına (arteriyel kan, venöz kan veya ikisinin karışımı gerektiğinde), kan alma süresine, sıklığına ve deneyin devam edip etmeyeceğine bağlı olarak değişir (7). Kan alma yönteminin deneyin planlanma aşamasında düşünülmesi gerekir. Bazı bölgelerden kan alımında ağrı meydana geldiğinden dolayı anestezi yapılmalıdır (2, 7, 8, 15, 17). Kan alımından sonra bölgeye direkt olarak veya gazlı bir bez ile bastırılarak hemostaz (kanamanın durdurulması) sağlanmalıdır. Arteriyel

punksiyonlardan sonra birkaç dakika basınç uygulanması gerekebilir. Kan alma metodu ne olursa olsun tam hemostaz elde edilene kadar (kan alma yerinden hiç kan gelmeyinceye kadar) hayvanlar kafese bırakılmamalıdır (2, 4).

Kan almak için damar kesilmesi önerilmez. şayet böyle bir işlem uygulanacaksa anestezi altında yapılmalıdır (2). Parmak veya kuyruğun kesilerek kan alınması da yasaklanmıştır. Bu şekilde kan almada venden ziyade bir arterin kesilmesi sonucu şiddetli kanamalara neden olması daima mümkündür. Ayrıca yöntemin yeri; enfeksiyon, hemoraji ve diğer komplikasyonlar için çok hassastır (2, 9).

Deney hayvanlarından güvenli kan alımı için her türün vücut ağırlığına göre farklı volümlerde kan ihtiva ettiği unutulmamalıdır (2). Eğer kan alındıktan sonra hayvanın yaşaması isteniyorsa dolaşımda bulunan kan miktarının % 10'undan fazlasının alınmaması gerekir (2, 7, 9). Pratikte; vücuttaki toplam kanın % 30-40'ı alınabiliyorsa da bunun ciddi hipovolemi ve kardiyovasküler yetmezliğe yol açacağı da unutulmamalıdır (4). Ratlarda % 40'dan daha fazla kan kaybı % 50 oranında mortaliteye neden olabilir (9). Bir kerede büyük volümlerde kan

¹ Yrd. Doç. Dr. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ

alınması gerekiyorsa (sağlıklı erişkin bir hayvanın vücut ağırlığının maksimum % 2'si alınabilir) alınan miktarı telafi etmek için i.v olarak izotonik sıvılar yavaşça verilmelidir (2, 9).

Tüm kanın % 10 veya daha az kaybında, herhangi bir belirti görülmez, diğer yandan % 15-20'sinin kaybında ise arteriyel basınç ve kardiyak atımda azalma görülür. Daha fazla kan kaybında ise kardiyak atım, kan basıncı ve doku perfüzyonundaki azalma yaşamı tehdit edebilir. Hayvan hemorajik şoka girebilir (2, 9, 13).

Deney hayvanlarından haftalık aralıklarla çok sayıda kan alınacaksa vücut ağırlığının maksimum % 1'i (kan volümünün % 5-10'u) alınabilir. Örneğin; 15 g gelen bir fareden 0.15 ml, 5 kg gelen bir kediden 50 ml, 40 kg gelen bir köpekten ise 400 ml kan alınabilir. Alınan bu volüm, sağlıklı erişkin hayvanlarda 24 saat içinde telafi edilmekle beraber bütün öğelerinin normale dönmesi için iki haftaya ihtiyaç vardır (2, 13). Alınabilecek maksimum miktardan daha az kan örnekleri alınırsa hayvan 1 ml/kg/gün oranında kan öğelerini yenileyecektir (2).

Tekrarlayan kan alımları birkaç ay devam edecekse alyuvar sayısı, hematokrit değer ve kan sürtme frotisi yapılarak aneminin kontrol edilmesi gereklidir. Laboratuvar hayvanlarının normal hematolojik parametreleri Tablo 1'de verilmiştir (9).

Yine tekrarlayan kan alımları gerektiği zaman her seferinde damarı delmek yerine heparin/serum fizyolojik içeren kalıcı kateter yerleştirilebilir. Kalıcı kateter anestezi uygulamadan yüzlek (yüzeysel) venlere yerleştirilebileceği gibi anestezi altında derin venlere de sabitleştirilebilir. Bu durum hayvanlara sıkıntı vermeden kolayca kan almaya yardımcı olur. Tüm türlerde kalıcı kateter yerleştirildiği zaman bazen ciddi kanamalara neden olabileceğinden 30-60 dakika aralıklarla kontrol edilmelidir. Bu durum kanamaya duyarlı olan deney hayvanları için oldukça önemlidir (4).

Ölümcül (*terminal*) kan alımında hayvanın vücut ağırlığının % 5'i kadarı alınabilir. Kan alımı, tam bir genel anestezi altında yapılmalı ve kan alımı sonrasında alternatif bir ötenazi metodu uygulanarak ölüm sağlanmalıdır (2).

KAN ALMA METOTLARI

Farklı hayvan türlerinde venöz punksiyon için çeşitli teknikler bildirilmektedir (Tablo 2) (7, 9). Ven içerisine veya vasküler sistemin diğer kısımları içerisine kanülle uygun bir şekilde girilmesi normal olarak yöntemin en zor kısmıdır. Bazı kurallar verilebilir, ama pratik bir beceri sağlanmalıdır (2).

Tablo 1. Laboratuvar hayvanlarının normal hematolojik değerleri (9)

Türler	PCV (%)	Eritrosit ($10^{12}/l$)	Hb (g/dl)	Reticulocyte (% RBC)	Lökosit ($10^9/l$)	Pıhtılaşma Zamanı (sn)
Fare	35-45	7.7-12.5	10-20	3.3-13.3	8.0	120-600
Rat	35-45	7.2-9.6	12-18	1.7-21.1	14.0	20
Kobay	35-42	4.5-7.0	11-17	1.8-6.1	10.0	-
Hamster	39-59	4.0-10.0	2-30	-	7.6	55
Ferret	35-51	11.3	12-17.4	-	2.5-15.4	-
Gerbil	48	7.0-10.0	12-17	-	4.3-21	-
Tavşan	30-50	4.5-7.0	8-15	2.9-8.0	9.0	60-360
Maymun	36-43	5.6-13.4	11-13	0.5-3.0	5.6-15.4	-

Tablo 2. Deney hayvanlarında kan alınan yer, dolaşımdaki kan hacmi ve alınabilecek maksimum kan miktarı (7, 9)

	Fare	Hamster	Rat	Kobay	Tavşan
Jugular ven	+	+	+	+	+
Femoral ven	+	+	+	+	+
Kulak veni	-	-	-	+	+
Kuyruk veni	+	-	+	-	-
Göz punksiyonu	+	+	+	+	-
Kalp punksiyonu	+	+	+	+	+
Kuyruk ucundan	+	-	+	-	-
Dolaşımdaki kan hacmi (ml/kg)	78 - 80	78	50 - 70	67 - 92	44 - 70
Alınabilecek maksimum miktar* (ml)	0.3	0.3	2.0	5.0	15

* Vücut ağırlığına bağlı olarak değişir.

Bölgenin Hazırlanması

Enjeksiyon veya ensizyon bölgesindeki kıllar tıraşlanır veya kırılır. Ayrıca alkolle temizlenmelidir. Bazı yöntemlerde sedasyon ve anestezi gerekli olacaktır. Diğerleri uygun bir tutma yöntemi uygulanarak anestezisiz uygulanabilir (2, 9).

Venlerin daha iyi görünmesi ve dilate olması için hayvanların kulak veya kuyruklarını 5-10 saniye 45 °C'lik suya daldırmak, alkol ve ksilol ile friksiyon yapmak veya 5-15 dakika düşük wathlı ampülle uyararak venöz punksiyon öncesi önerilebilir (2, 7, 13).

Kuyruktan Kan Alma

Aralıklı kan almak için en uygun yöntem olan bu metot, daha çok fare ve ratlarda kullanılır. Kuyruқта 2 lateral ve 1 dorsal olmak üzere üç tane ven, 1 tane de ventral arter vardır. Punksiyon yeri; kuyruğun vücuda yakın kısımlarındaki derinin pullu olmasından dolayı uç kısımlar olmalıdır (8, 9). Hayvan anesteziye alınabileceği gibi anesteziye alınmadan da iyi bir tespit işlemi yapıldıktan sonra (bir düzeneğe veya bir yardımcı tarafından) bu yöntemle ortalama 0.2–0.4 ml kan alınabilir (2, 9, 15). Bölgenin hazırlığı yapıldıktan sonra kuyruk venlerinden birine küçük bir ensizyon yapılabileceği gibi 23–25 guage'lık kanül ile de hassas bir şekilde kan alınabilir (2).

Kulaktan Kan Alma

İri kobaylar ve tavşanlar için uygun olan bu yöntemle kobaylardan az miktarda (0.1 ml) (2, 4, 8, 10), tavşanlardan ise iyi gözlemek koşuluyla en fazla 10 ml/kg kan alınabilir (10). Bölgenin hazırlığı yapıldıktan sonra kulağın dış kısmında periferde bulunan marjinal vene, 21–33 guage'lık kanül ile girilir (Şekil 1). Daha sonra kan yavaş bir şekilde enjektör içine çekilir. Şuuru yerinde olan hayvanlarda bu işlem sorun oluşturabileceğinden çoğunlukla anestezi gerektirir (10).

Tavşanda fazla miktarda kan örneği gerektiğinde genellikle kulağın ortasında seyreden arterden de kan alınabilir. Fakat damarda hasar şekillenirse kulağın dolaşımı ciddi şekilde etkilenir. Bu işlem için 20 guage'lık kanül yada 22 guage'lık branül kullanılabilir. Arteriyal yoldan kan toplanırken iğne ucundan direk tüp içine kanın akması yöntemi tercih edilir (10).

Kalpten Kan Alma

Fare, rat, kobay ve tavşanlarda kullanılan bu teknik genellikle çalışmanın sonlandırılması esna-



Şekil 1. Bir tavşanın kulağının dış kısmında, periferde bulunan marjinal venden kan alınması (Sentral kısımda arter görülmekte) (10)



Şekil 2. Bir ratta kalpten kan alma (2)

sında ve fazla miktarda kan alınması gerektiği durumlarda tercih edilir (Şekil 2) (2, 4, 6, 10, 13).

Atriumdan kan alınması, perikarda kan sızması ve buna bağlı kalp durması ve ölüm riskinden dolayı sakıncalıdır. Kobaylarda 21-23 guage, tavşanlarda ise 19-21 guage'lık kanüllerin kullanılması uygundur. Tavşanlarda kulak venasından istenildiği kadar kan alınabileceği için kalpten kan alma tamamen kansız bırakmak için kullanılmamalıdır. Sıçan ve farelerde trombosit sayısı yüksek olduğu için ince çaplı kanüllerle kan alınırken pıhtılaşma olabilir. Bu nedenle 21 veya 23 guage'lık kanül tercih edilmeli ve hızlı davranılmalıdır. Birkaç kez deneme kalpte yırtılmalara sebep olacağından kanın göğüs boşluğunda birikip pıhtılaşmasına, hemoraji ve ölüme sebep olabilir (2, 4).

Periorbital Kan Alma (Orbital sinus punksiyonu)

Anestezi altındaki fare ve ratlarda orbital ven pleksusları kapillar tüplerle zedelenecek kanın tüpe dolması sağlanır. Bu teknik kullanılarak haftada bir veya iki haftada bir fareden 0.25 ml, ratlardan ise 0.5 ml kan tekrar tekrar alınabilir. Orbitanın venöz yapısının lokalizasyon yerini bilmek başarılı bir periorbital kan alma tekniği için yardımcı olabilir. Kapillar tüp küre etrafından çevrilerek orbital sinus içine direkt olarak sokularak kanatılır (Şekil 3). Tüp çekildikten hemen sonra kanama durur. Eğer durmazsa basınç uygulanmalıdır. Bu şekilde alınan kan örneğinin Harderian bezinden salgılanan forfirin ve diğer vücut sıvıları ile kontaminasyonu olabilir. Bu sebeplerden dolayı steril kan alınmasında bu yöntem tercih edilmez. İşlem kaba yapılırsa retroorbital hematoma oluşabilir. Oluşan hematoma basıncı nedeniyle ağrı hissedilir. Ayrıca optik sinir hasarlanabilir. İntraorbital yapıların hasarı sonucu hemoraji, yangı ve körlük oluşabilir. Bu nedenlerden dolayı pek çok ülkede orbital damarların punksiyonu uygun bir kan alma yöntemi olarak görülmemektedir (2, 6, 7, 14, 15, 16).



Şekil 3. Bir farede periorbital kan alma (6)

Safenöz Venden Kan Alma

Safenöz ven genellikle fare, rat, gerbil, kobay, ferret ve mink gibi büyük hayvanlarda uyluk bölgesine basınç yapılarak venöz durgunluk sağlandıktan sonra az miktarda kan almak için uygundur (2, 3, 6, 11, 12, 13, 15). Kardiyak ve retroorbital punksiyona alternatif olarak geliştirilen pratik insani bir metottur. Hayvanı zapt etmek için 50 ml'lik tüp kullanılır. Tüpe hava giriş çıkışını sağlamak için tüpün koni kısmı delinir. Arka bacak gerilir. Kuyruk ve kalça arasındaki deri kıvrımı tutularak sabitleştirilir. Bacağın kılları temizlenir.



Şekil 4. Bir ratta safenöz venden kan alma (6)

23 guage'lık iğne ile ven delinir. Çıkan kan tüpe serbestçe akıtılır (Şekil 4) (3, 5, 6, 15).

Kan alınması sonrası basınç yapılarak hemostat sağlanır. Pıhtılaşmayı ve koagülasyonu azaltmak için silikon yağıyla deri yağlanır. Birden fazla örnek aynı yerden alınacağı zaman yara kabuğu kaldırılır. Bir günde birkaç kez yapılabilir (3, 5).

Jugular Venden Kan Alma

Tercihen anestezi altında bir deri kesiti sonrası klavikulanın hemen üstünde jugular ven görülerek doğrudan kan alınabileceği gibi, genç hayvanlarda kanül ile de girilebilir. Kan alındıktan sonra deri kesiti birkaç dikişle kapatılmalıdır. Tekrarlayan kan alımlarında kalıcı kateter konulabilir (8, 9, 13).

Vena Cava'dan Kan Alma

Bir mililitreden daha fazla kan alınacağı durumlarda (3-8 ml) bu teknik tercih edilir. Hayvan anestezi altında dorsal yatış pozisyonunda tutulur. Batın açıldıktan sonra sekum ve bağırsaklar kenara itilerek vena cava görülür. Üzerindeki yağlı doku sıyrıldıktan sonra tercihen intraket yardımıyla kan alınır (13).

Fascial Ven Tekniği

Farelerde anestezi uygulamadan 4-7 damla kan almak için kullanılan bir metottur. Farenin çenesinde bulunan lekenin birkaç mm üst kısmından fascial ven'e 4-5 mm'lik lancet veya 18 guage'lık iğne kullanılarak punksiyon yapılarak kan direkt tüp içerisine akıtılır. Kan alımdan sonra bölgeye baskı yapılarak kanamanın durması sağlanır (1).

Sublingual Venin Punksiyonu

Genel anestezi altında sublingual venin punksiyonu son yıllarda bildirilmiştir. Ancak bu meto-

dun hayvanların yem alımının azalmasına neden olabileceği belirtilmektedir. Rat anestezideye alındıktan sonra supine pozisyonunda tutulur. Hayvanın dilini dışarı çeken bir kişi tarafından sublingual venin punksiyonu yapılır ve hemen sonra kan örneği tüpe aktarılır (17).

Dorsal Pedal Venden Kan Alma

Farelerde uygulanabilecek bu yöntem için hayvan bir tüp içerisine alınarak (kapalı kısmında delik olan tüp) bir bacak dışarıda bırakılır. Ayak bileği başparmak (ayağın üzerine gelecek) ile işaret parmağı arasına alınarak bastırılır. Ayağın üzerinde orta kısımda seyreden dorsal pedal ven bulunur, 23 – 27 gauge'lık iğne ile ven delinir (Şekil 5). Çıkan kan kapiller tüpe akıtılır. Basınç uygulanarak veya stiptik kalemle (gümüş nitrat) koterizasyon yapılır (6).



Şekil 5. Bir farede dorsal pedal venden kan alma (6)

KAYNAKLAR

1. **Anon.** (2008) *Facial vein technique*. http://www.ahc.umn.edu/rar/facial_vein.html. Erişim tarihi: 05.06.2008.
2. **Anon.** (2008) *Guidelines for collection of blood from experimental animals*. <http://www.ahc.umn.edu/rar/BLOOD.HTML>. Erişim tarihi: 10.06.2008.
3. **Bronstad, A.** (2008) *Blood collection using the saphenous vein: An alternative to retro-orbital collection*. http://www.uib.no/vivariet/mou_blood/Blood_coll_mice_.html. Erişim tarihi: 05.06.2008.
4. **Durgut, R., Yarsan, E.** (2007) *Laboratuvar Hayvanları Hastalıkları ve Sağaltımı*. pp: 14-16. Medisan yayın serisi: 66, Medisan Yayınları, Ankara.
5. **Hem, A., Smith, A.J., Solberg, P.** (1998) *Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig, ferret and mink*. *Lab. Anim.*, 32: 364-368.
6. **Hoff, J.** (2000) *Methods of blood collection in the Mouse*. *Lab. Anim.*, 29: 47-53.
7. **İde, T.** (2003) *Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri*. pp: 292-297. Çeviri: Zutphen, L.F.M., Baumans, V., Beynen, A.C. (Eds): Principles of Laboratory Animal Science. Ökan Matbaacılık Ltd. Şti., Medipres. Ankara.
8. **Meredith, A., Redrobe, S.** (2002) *BSAVA Manual of Exotic Pets*. pp: 13-101. Fourth edition. British Small Animal Veterinary Association. England.
9. **Morton, D.B., Abbot, D., Barclay, R., Close, B.S., Ewbank, R., Gask, D., Heath, M., Mattic, S., Poole, T., Seamer, J., Southee, J., Thompson, A., Trussell, B., West, C., Jennings, M.** (1993) *Removal of blood from laboratory mammals and birds*. *Lab. Anim.*, 27: 1-22.
10. **Narin, C.** (2008) *Deney hayvanlarının kullanım teknikleri: Enjeksiyon, kan ve örnek alma*. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi, Deney Hayvanlarının Deneysel Araştırmalarda Kullanılması Kursu", Konya.
11. **Nau, R., Schunck, O.** (1993) *Cannulation of the lateral saphenous vein – a rapid method to gain access to the venous circulation in anesthetized guinea pigs*. *Lab. Anim.*, 27: 23-25.
12. **Otto, G., Rosenblad, W.D., Fox, J.G.** (1993) *Practical venipuncture techniques for the ferret*. *Lab. Anim.*, 27: 26-29.
13. **Öz, M.** (2008) *Deney hayvanları kullanım teknikleri 2*. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi, Deney Hayvanlarının Deneysel Araştırmalarda Kullanılması Kursu, Konya.
14. **Van Herck, H., Baumans, V., Boere, H.A.G., Hesp, A.P.M., Van Lith, H.A., Beynen, A.C.** (2000) *Orbital sinus blood sampling in rats: effects upon selected behavioural variables*. *Lab. Anim.*, 34: 10-19.
15. **Van Herck, H., Baumans, V., Brandt, C.J.W.M., Boere, H.A.G., Hesp, A.P.M., van Lith, H.A., Schurink, M., Beynen, A.C.** (2001) *Blood sampling from the retro-orbital plexus, the saphenous vein and the tail vein in rats: comparative effects on selected behavioural and blood variables*. *Lab. Anim.*, 35: 131-139.
16. **Van Herck, H., Baumans, V., Van Der Craats, N.R., Hesp, A.P.M., Meijer, G.W., van Tintelen, G., Walvoort, H.C. and Beynen, A.C.** (1992) *Histological changes in the region of rats after orbital puncture*. *Lab. Anim.*, 26: 53-58.
17. **Zeller, W., Weber, H., Panoussis, B., Bürge, T., Bergmann, R.** (1998) *Refinement of blood sampling from the sublingual vein of rats*. *Lab. Anim.*, 32: 369-376.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Mustafa İSSİ
Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ
e-mail: mustafaissi@hotmail.com

DERLEME/REVIEW

LABORATUVAR HAYVANLARININ ÖNEMLİ HELMİNTOZLARI VE KONTROLÜ

IMPORTANT HELMINTH INFECTIONS OF LABORATORY ANIMALS AND THEIR CONTROL

Hakkı ÜNLÜ¹

Hasan EREN²

Geliş Tarihi (Received): 07.07.2008

Kabul Tarihi (Accepted): 24.12.2008

ÖZET

Çeşitli bilimsel çalışmalarda kullanılan laboratuvar hayvanlarının son yıllarda pet hayvanı olarak evlerde beslenmeleri önemlerini artırmıştır. Cestodiosis ve trichinellosis gibi zoonozların laboratuvar hayvanlarında görülmesi toplum sağlığı bakımından sorun oluşturabilmektedir. Bu derlemede özellikle tavşan ve kemirgenlerde görülen önemli helmint enfeksiyonları ve bunların kontrolü konusunda genel bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Helmint, laboratuvar hayvanları, mücadele, zoonoz.

SUMMARY

Laboratory animals used in many scientific studies have gain in importance as a pet in recent years. Zoonose helminth diseases like cestodiosis and trichinellosis that occur in laboratory animals may make many trouble in public health. In this review, important helminthosis of rabbits and rodents and their control are mentioned.

Key Words: Control, helminth, laboratory animals, zoonotic.

GİRİŞ

Günümüzde hastalıkların teşhisi, tedavisi ve mücadelesi, kanser araştırmaları, organ transplan-tasyonları, şeker hastalığı gibi farklı bilimsel çalış-malarda çeşitli deney hayvanları kullanılmaktadır. Laboratuvar hayvanları ile yapılacak ve sahaya aktarılması düşünölen çalışmalarda başarılı sonuç-lar almak için her şeyden önce kaliteli, standardize edilmiş, iyi bakım ve yönetim şartlarının oluşturul-ması gerekmektedir (20). Bu şartlar altında yetiş-tirilmiş, parazitlerden arındırılmış sağlıklı laboratu-var hayvanlarında şüphesiz daha kaliteli ve daha kesin bilimsel veriler elde edilmektedir. Sıklıkla kullanılan deney hayvanları olan fare, rat (sıçan, keme), tavşan, hamster ve gerbiller beşeri ve vete-riner hekimliğini ilgilendirecek pek çok paraziter hastalık taşımaktadır. Bu hastalıklardan önemlileri şunlardır.

TREMATOD HASTALIKLARI

Fasciolosis: *Fasciola* türlerinin doğal konak-ları geviş getirenler, domuz ve insanlardır. Dün-yada ve Türkiye'de en çok görülen *Fasciola* türleri

Fasciola hepatica (yaprak kelebeğı) ve *Fasciola gigantica* (yılan kelebeğı)'dir. *F. hepatica*'nın Avrupa'da en önemli arakonağı *Lymnea truncatula*, *F. gigantica*'nın ise en önemli arakonağı *Lymnea auricularia*'dır. Sonkonak olarak fare, rat, tavşan ve kobaylarda *F. hepatica* enfeksiyonu görülebilmektedir (5, 10, 30). Özellikle açık alanlarda yetiş-tirilen ve taze ot ile beslenen tavşanlar için enfeksiyon önemlidir. *F. hepatica* ve *F. gigantica* sonkonağın karaciğer safra kanallarına yerleşmek-tedir. Enfekte hayvanlarda kolangitis şekillenir. Buna bağılı olarak iştahsızlık, zayıflama ve ödem oluşur (10, 30, 31).

Dicrocoeliosis: Sonkonağı özellikle geviş getirenler olan *Dicrocoelium dentriticum* nadiren kobay, tavşan ve farelerde görölmektedir. Etken gelişmesinde iki arakonak kullanılmaktadır. Birinci arakonak *Hellicella*, *Zebrina*, *Cionella* gibi kara salyangozları, ikinci arakonakları ise *Formica* cinsine bağılı karnıcalardır (15, 27, 31). Güralp (15), yabancı tavşanların bu parazitin yayılması için önemli bir faktör olduğunu vurgulamıştır. Doğanay

¹ Arş. Görevlisi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji (Veteriner) AD, Aydın/TÜRKİYE.

² Prof. Dr. Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, Aydın/TÜRKİYE.

ve Gürlar (13) Ankara’da evcil ve yabani tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada yaban tavşanlarının karaciğerlerinde bu parazite % 25 oranında rastladıklarını bildirmişlerdir. Etkenin patojenitesi azdır. Genelde klinik belirtiler görülmemektedir. (30).

CESTOD HASTALIKLARI

Cysticercosis: Taeniidae ailesinde bulunan, olgunları köpek ve tilkilerin bağırsağında yaşayan *Taenia pisiformis*’in larvası *Cysticercus pisiformis* tavşanlarda salkım veya demet halinde omentum, mesenteriyum, karaciğer serozası altında ve seyrek olarak organlarda tutunmuş halde bulunmaktadır. Kistlerin çapı 18 mm’ye kadar çıkabilmektedir. Etken kozmopolit bir yayılış göstermektedir. Kistin büyüklüğü bezelye tanesi kadardır. Arakonaklar genellikle evcil ve yabani tavşanlardır. Tavşanlar için enfeksiyon kaynağı yabani et yiyenler ve köpeklerdir. Açık alanlarda yetiştirilen tavşanlarda hijyen kurallarına uyulmamasına bağlı olarak hastalık ortaya çıkabilmektedir (7, 10, 18, 27).

Coenurosis: Kozmopolit bir yayılış gösteren ve Taeniidae ailesine ait *Taenia serialis* köpek ve tilkilerin ince bağırsaklarında, larval formu olan *Coenurus serialis* ise tavşanların ve diğer kemiricilerin çoğunlukla intermuscular ve subcutan bağ dokularında, göz çukurunda bulunmaktadır. Kistlerin çapı yaklaşık 4-5 cm olabilmektedir. Coenurosis, aynı şekilde açık alanda yetiştirilen tavşanlarda önemlidir. Evcil tavşanlarda nadiren görüldüğü belirtilmektedir. Şiddetli enfeksiyonlarda ölümler görülür. Larva göz çukuruna yerleşirse enfekte tavşanlarda körlüğe neden olabilmektedir (7, 10, 27).

Strobilocercosis: Erişkinleri kedi ve kedigillerin ince bağırsaklarında yaşayan *Taenia taeniaeformis*’in (*Hydatigena taeniaeformis*) larval formu olan *Strobilocercus fasciolaris*, kemirgenler ve nadiren tavşanların karaciğerinde bulunmaktadır (26, 31). Larvalar arakonakta 30 cm boyunda ve bezelye gibi kistler şeklinde yerleşmiştir. Etken dünyada yaygın olup Türkiye’de de bildirilmiştir. Arakonakta genelde belirtiler görülmemektedir (10, 31).

Cittotaeniosis: Evcil ve yaban tavşanların ince bağırsaklarında görülen Cittotaeniosis etkenleri *Cittotaenia ctenoides*, *C. pectinata*, *C. denticulata*’dır. Cittotaeniosis daha çok açık alanlarda yetiştirilen tavşanlarda görülmektedir. *C. denticulata* ve *C. pectinata* Türkiye’de yaban tavşanlarında bildirilmiştir. *C. ctenoides* yaklaşık 80 cm uzunluğunda 1 cm genişliğindedir. Etkenin

scolex’i yaklaşık 0.5 mm uzunluğundadır. Arakonagi çeşitli Oribatid akarlardır. Oribatid akarların vücut boşluğunda sistiserkoidler gelişir. Enfekte akarların otlarla birlikte alınmasıyla özellikle yavru tavşanlarda enfeksiyon oluşmaktadır. *Cittotaenia ctenoides*’in neden olduğu ağır enfeksiyonlarda sıklıkla sindirim sistemi rahatsızlıkları, zayıflama, gelişmede gerilik ve ölümler görülebilmektedir. (10, 27, 31).

Hymenolepiosis: Hymenolepidae ailesine ait *Hymenolepis nana* ve *Hymenolepis diminuta* kemirgenlerde sıkça görülen ve zoonoz özellik gösteren en yaygın türlerdir. Ayrıca kemirgenlerde görülen *Hymenolepis microstoma*’nın ise pek yaygın olmadığı bildirilmektedir (27). *H. nana*, 2.5-4 cm. uzunluğunda, *H. diminuta* erişkinleri ise 2-6 cm. uzunluğundadır (31). *H. nana* fare, rat, hamster, gerbil, bazı primatlar ve insanda görülmektedir. *H. diminuta* ise önceden belirtilen kemirgenlerde oldukça yaygındır. Ara sıra köpek ve insanlarda da görülebilmektedir (19, 27, 31). *H. nana* ve *H. diminuta*’nın arakonagi *Tenebrio molitor* gibi bazı Coleoptera türleri ve *Ctenocephalides canis*, *Pulex irritans* ve *Xenopsylla cheopis* gibi bazı pire türleridir. Her iki etkenin de Türkiye’de yaygın olarak görüldüğü belirtilmiştir (31). Kayseri’de yapılan çalışmalarda (3, 33), *H. nana*’ya laboratuvar farelerinde % 80, laboratuvar ratlarında % 10 rastlandığı bildirilmiştir. *H. nana* ve *H. diminuta* zoonoz özellik göstermektedir (31). Hymenoleposiste enfekte hayvanlarda parazitin sayısına bağlı olarak kataraldan kronik enteritise kadar değişen bir hastalık tablosu oluşmaktadır (10, 31).

NEMATOD HASTALIKLARI

Strongyloidosis: *Strongyloides papillosus*, tavşanların, ratların ve gevişenlerin ince bağırsaklarının ön kısımlarında yaşamaktadır. *Strongyloides ratti* ise ratların ince bağırsakların ön kısımlarında bulunmaktadır. Türkiye’de tavşan dışkılarında *S. papillosus* yumurtalarına rastlandığı bildirilmektedir (10). *Strongyloides* türlerinin sadece dişileri parazit olarak yaşamaktadır (31). Erişkinler 6 mm uzunluğundadır (8). *Strongyloides* türleri partenogenetik gelişme gösterebilme özelliğine sahiptirler. Sonkononagin ince bağırsağında sadece dişiler bulunur. Patojenite, göç eden larvaların akciğerde oluşturdıkları lezyonlar veya erişkinlerin bağırsaklarda oluşturdıkları lezyonlar ile ilişkilidir. Hastalıktan en fazla genç hayvanlar etkilenmektedir. Enfekte hayvanlarda geç gelişme veya büyüme geriliği görülmektedir. Bağırsaklarda sayıca fazla olduklarında ödem ve erozyonlara neden olmaktadır.

Bu durum ise kataral enteritis ile absorpsiyon bozukluğuna yol açmaktadır (8, 10, 18, 31).

Obeliscoidosis: *Obeliscoides cuniculi* tavşanların midesinde yaşayan Trichostrongylidae ailesine ait ve gelişimi direkt olan bir türdür. Dişileri 10-18 mm, erkekleri 10-14 mm uzunluktadır. Daha çok Amerika'da yaygın olarak bulunmaktadır. Tavşanlarda ağırlık kaybı ve gelişme geriliğine yol açmaktadır (7, 8, 10, 18).

Graphidiosis: Trichostrongylidae ailesine ait olan *Graphidium strigosum*, tavşanların mide ve ince bağırsaklarının ön bölümünde bulunmaktadır. Erişkinleri kırmızı renkli ve yaklaşık 0.8-20 mm kadardır. Gelişme *Obeliscoides*'te olduğu gibi direkt olmaktadır. Hafif enfeksiyonlarda pek fazla belirti görülmez. Ağır enfeksiyonlarda gastritis, enteritis, ishal, ağırlık kaybı, anemi ve ölüm görülebilmektedir (8, 18).

Trichostrongylosis: Etken *Trichostrongylus retortaeformis*'tir. Bunların dışında geniş getirenlerde bulunan *T. axei*, *T. colubriformis* ve *T. vitrinus* türleri de tavşanlarda görülebilmektedir. *T. Retortaeformis*, 0.5-0.8 cm uzunluğunda ve beyaz renkli bir nematoddur. *Trichostrongylus* türleri konağın ince bağırsaklarında yaşarlar ve gelişmeleri direkttir. Bulaşma sindirim yoluyla olmaktadır (10, 15, 18). *T. axei* insanlarda da görülmektedir. Ankara'da yaban tavşanlarında *T. Retortaeformis* % 37.5 olarak tespit edilmiştir (13). Yoğun enfeksiyonlarda hasta tavşanlarda gastiritis veya enteritis, ishal ve ağırlık kaybı, büyümede gerilik gibi belirtiler görülebilmektedir (10, 18).

Nematodirosis: *Nematodirus leporis* tavşanların ince bağırsaklarında yaşayan ve Trichostrongylidae ailesine ait bir nematoddur. Etkenin patojen olmadığı belirtilmektedir (7). Doğanay ve Gürler (13), Türkiye'de yaban tavşanlarının ince bağırsaklarında *N. leporis*'e ilk kez rastladıklarını bildirmişlerdir.

Angiostrongylosis: *Angiostrongylus* cinsine bağlı olan ve zoonoz özellik gösteren *Angiostrongylus cantonensis* ratların akciğer nematodudur. Arakonakları su ve kara salyangozları, paratenik konakları ise crustacea (kabuklular) ve kurbağalardır (31). Altaş ve İriadam (1), insanların enfekte kara salyangozları, yengeç ve karides gibi canlıları yiyerek enfekte olduğunu ve etkenin ölümle sonuçlanabilen meningoensefalitlere neden olduğunu belirtmiştir. *A. cantonensis* ile enfekte insan ve farelerde eosinofilik meningitis ve buna bağlı semptomlar görülebilmektedir (17).

Nippostrongylosis: Tüm dünyada ratlarda ve farelerde rastlanan *Nippostrongylus braziliensis*'in erişkinlerinin dişisi 2.5-6.5 mm, erkeği 2.1-4.5 mm'dir. Gelişimi direkt olmaktadır. Sıçan kancalıkurdu da (rat hookworm) denilen etkenin enfektif üçüncü dönem larvası konağın derisine girerek konağı enfekte etmektedir. Vücutta göç dönemi geçirerek bağırsaklara gelen etken burada erişkin hale geçmektedir. Konakta deri, bağırsak ve akciğer lezyonları oluşturmaktadır (10).

Paraspidodera uncinata: Heterakidae ailesine ait olan *Paraspidodera uncinata* enfeksiyonu yalnızca kobaylarda bildirilmiştir. Erişkin erkeklerin boyu 11-22 mm, dişilerinin boyu 16-27 mm'dir. Etken, pet veya laboratuvarında yetiştirilen kobayların sekumlarında bulunmaktadır. Yumurtalardan 51-66 gün sonra ergin nematodlar oluşmaktadır (14, 21, 27) *P. uncinata*'nın gelişmesi direkt olmaktadır. Etkenin kobaylarda herhangi bir enfeksiyon oluşturmadığı belirtilse de (27) Fremont ve Bowman (14), nematodun kobaylarda ağırlık kaybı, iştahsızlık ve ishal gibi belirtilere yol açabileceğini bildirmişlerdir.

Passalurosis: Tavşanların sekum ve kolonlarına yerleşen *Passalurus ambiguus*, Oxyuridae ailesine ait bir nematod olup (pinworm) beyazımsı renkte, küçük ve boyutu 0.3-1.2 cm uzunluğundadır. Gelişimi direkt olup dişi parazitler yumurtalarını anüs çevresindeki deriye bırakmaktadır. Buradan dışkıya geçen yumurtalar çevreye saçılmakta ve bulaşma 3. dönem larva içeren yumurtaların ağız yoluyla alınmasıyla olmaktadır. Yabani ve evcil tavşanlarda sıkça görülen bu parazit laboratuvarlarda yetiştirilen tavşanlarda da görülmektedir (10, 18). Doğanay ve Gürler (13), nekropsisini yaptığı tavşanların % 4.9'unda, Bıyıklıoğlu ve Öncel (6) ise İstanbul'da nekropsi yaptıkları tavşanların birinde bu etkene rastladıklarını bildirmişlerdir. *P. ambiguus*'un tavşanların kalın bağırsaklarında düşük derecede irritasyona sebep olduğu ve ekonomik açıdan herhangi bir öneme sahip olmadığı ifade edilmektedir (6). Ancak ağır enfeksiyonlarda klinik belirtiler görülebilmektedir (6, 7).

Syphaciosis: *Syphacia obvelata*, farelerde yaygın olarak bulunan Oxyuridae ailesine ait bir nematoddur. Dişileri 3.4-5.8 mm, erkekler 1-1.5 mm uzunluktadır. Biyolojisi direkt olup 11-15 günde tamamlanmaktadır. *Syphacia sp.*'nin (pinworm) biyolojisinde ayrıca konağın vücudunda kalan yumurtalardan larva çıkmakta ve larva vücuda doğru göç geçirerek konakta tekrar enfeksiyon oluşturmaktadır. Bu duruma retroenfeksiyon denmektedir. *S. obvelata*, laboratuvar fareleri ve ratları

ile yabancı kemirgenlerde dünyada geniş yayılışa sahiptir (18, 21, 27). Okursoy (20), Türkiye’de beyaz farelerde bu nematoda % 8.8-100 oranında rastlanıldığını belirtmiştir. Ayrıca *Syphacia muris*’e ratlarda ve bazı kemirgen türlerinde de rastlanılmaktadır (27). Laboratuvar fareleri, hamsterler ve gerbiller üzerine yapılan bir araştırmada *S. muris*’in fare, hamster ve gerbille rahatlıkla geçebildiği bildirilmiştir (25). Hanes (16), hamsterlerde *S. obvelata*’nın ve deneysel olarak *S. muris*’in görüldüğünü bildirmiştir. İyi bakılan fare kolonilerinde bile *S. obvelata* görülmektedir. *S. obvelata* ile doğal enfeksiyonlar genellikle subklinik seyretmekte, fareler normal ve sağlıklı görülebilmektedir. Ancak ağır enfeksiyonlarda yemden yararlanamama, rektal prolapsus, bağırsak kısmının bir sonraki kısma geçmesi (intussusception) ve çeşitli bağırsak bozuklukları görülmektedir. Hamsterlerde *S. obvelata*’ya bağlı olarak ağır enfeksiyonlarda şiddetli olmayan bir enteritis meydana gelebilmektedir (9, 16, 21).

Aspiculurosis: Fare ve ratların kalın bağırsaklarında yaşayan, tüm dünyada yaygın olan ve Oxyuridae ailesine ait olan *Aspiculuris tetraptera*’nın (pinworm) erişkin dişileri, 2.6-4.7-mm olup erkekleri daha küçüktür (10, 21). Hanes (16), hamsterlerde *A. tetraptera*’nın görüldüğünü, ancak hamsterlerin bu nematoda karşı duyarlı olduğunu belirten bir bulguya rastlanmadığını belirtmiştir. *A. tetraptera*’nın gelişmesi direkt olmaktadır. Etken yumurtlayacağı zaman proksimal kolondan distal kolona doğru gelir ve buraya yumurtalarını bırakır. *A. tetraptera*’nın biyolojisi, yaklaşık 21-25 günde tamamlanmaktadır. Bulaşma ağız yolu ile olmaktadır. Enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak fare ve ratlarda gelişme geriliği, zayıflık ve prolapsus recti görülmektedir (10, 24).

Trichurosis: Trichuridae ailesine ait olan *Trichuris leporis*, tavşanların sekum ve kalın bağırsaklarında bulunmaktadır. Erkekleri 19-21 mm, dişileri 17.4-20.9 mm uzunluğundadır. Parazitin herhangi bir hastalık belirtisine yol açmadığı belirtilmektedir (7, 15).

Capillariosis: Yabancı kemirgenlerin doğal bir paraziti olan *Capillaria hepatica*, Capillaridae ailesine aittir. Etken nadiren kobay, kedi, köpek ve insanların karaciğerlerinde bulunmaktadır. *C. hepatica*, 4-12 cm uzunluğunda olabilmektedir. *C. hepatica*, kemirgen ve tavşanlarda oldukça sık görülmektedir. Aynı zamanda laboratuvarda yetiştirilen fare ve ratlarda da enfeksiyona rastlanmaktadır. *C. hepatica*’nın zoonotik önemi vardır. En-

feksiyon özellikle kötü hijyenin olduğu bölgelerde çocuklarda da sıklıkla görülebilmektedir. İnsanlarda enfeksiyon yumurta ile bulaşık gıda ve suların alınması ile oluşmaktadır. Klinik belirtiler genelde görülmeyebilir. Şiddetli enfeksiyonlarda akut veya subakut hepatitis, siroz ve ascites görülebilmektedir (2, 8, 10, 14, 18, 27, 31).

Trichosomoidosis: Capillaridae ailesine bağlı *Trichosomoides crassicauda*, ratların sidik keselerine yerleşmektedir. Erişkin dişiler 10-19 mm, erişkin erkekler ise 1-3.5 mm uzunluğundadır. Erkekler dişinin uterusunun içinde bulunmaktadır. Parazitin biyolojisi direktir. Ratlarda enfeksiyon embriyolu yumurtaların sindirim yolu ile alınması ile oluşmaktadır. Ayrıca genellikle süttan kesme döneminden önce anne rattan yavrulara da geçebildiği belirtilmiştir. Yumurtalar idrar ile dışarı atılmaktadır. Yumurtayı terk eden larvalar kan dolaşımı ile üriner sistem organlarına gelmekte ve gelişerek erişkinler oluşmaktadır. Enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak ratlarda kan işeme, idrar kesesi tümörleri ve idrar kesesi taşlarına rastlanabilir. Aynı zamanda göç sırasında larvalar, karaciğerlerde eozinofilik granulomlara neden olmaktadır (8, 10, 27).

Trichinellosis: *Trichinella spiralis*, *T. nativa*, *T. nelsoni* ve *T. pseudospiralis* gibi türler zoonozdur. En kozmopolit ve insanlarla ilişkisi en çok olan tür *T. spiralis*’tir. *T. spiralis* insan, domuz, rat ve diğer memelilerin ince bağırsaklarında yaşayan ve larvaları iskelet kaslarına yerleşen bir nematodur. Erişkin erkekler 1.4-1.6 mm, erişkin dişiler ise 3-4 mm uzunluğundadır. *T. spiralis*, dünyada yaygın ve konakçı spektrumu oldukça geniş olan zoonoz bir hastalık etkenidir. Hastalığa zoonotik olarak bakılırsa insan ve domuz önemli konaklardır. Trichinellosis konusunda yapılan bir çok araştırmaya rağmen, bu hastalık zoonoz önemi bakımından nerede ve ne zaman görüleceği belli olmayan bir tehlike olarak kalmaya devam etmektedir (25). Parazitin biyolojisinde silvatik döngü ve sinantropik-zoonotik döngü bulunmaktadır. Tilki, çakal, yaban domuzu, ayı, çalı domuzları (bushpig), mors (walrus) gibi memeliler silvatik bulaşmada rol oynamaktadır. Sinantropik-zoonotik bulaşmada ise domuz ve rat, nadiren kedi, köpek ve insanlar enfekte olmaktadır. Trichinellosis deneysel olarak laboratuvarlarda yetiştirilen kemirgenlerde de görülmektedir. Bu parazitin biyolojisi oldukça ilginçtir, aynı canlı hem kesin konak hem de ara konak olup ergin parazitler ve larvaları farklı organlarda bulunmaktadır. Enfeksiyon genel-

likle kemirgenlerin kanibalismus yoluyla kas içinde bulunan ankiste olmuş birinci dönem larvaları (L1) yemesi ile oluşmaktadır. *T. spiralis* vivipar bir nematodur. Cosoroabă ve Orjanu (12), deneysel olarak domuz, kobay ve tavşanlarda plasenta yolu ile bulaşmanın mevcudiyetini bildirmişlerdir. Tavşan ve kobayların, *T. spiralis* enfeksiyonlarının yayılmasında fazla bir önemi olmamaktadır. Domuz ve ratlarda plasenta yolu ile bulaşmanın hastalığın epizootiyolojisinde önemli bir rolü bulunmaktadır. Trichinellosis evcil hayvanlarda genellikle hafif seyretmekte ve klinik belirtilere yol açmamaktadır. Rat, köpek, kedi gibi hayvanlar, *T. spiralis* enfeksiyonuna karşı daha duyarlıdır. Yoğun enfeksiyonlarda bağırsaklardaki erişkin parazitlere bağlı olarak kataral-hemorajik bir yangı görülmektedir. Larvaların kaslardaki tahribatına bağlı olarak akut myositis, kas ağrısı, ağrılı, yüzeysel ve hızlı bir solunum, hareketlerde sertlik ve yutkunma problemi oluşmaktadır (10, 15, 26, 27, 31, 32).

LABORATUVAR HAYVANLARININ HELMİNTOZLARINDA TANI

Laboratuvar hayvanları helmintlerinin tanısı için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Tanı için dışkı muayeneleri yapılmakta veya nekropside helmintin bulunduğu doku ve organlar muayene edilmektedir (Fasciola ve Dicrocoelium için karaciğer safra kanalları incelenebilir). Tavşan ve rodentlerde görülen Taeniidae ailesindeki cestod larvaları ile nematod olan *C. hepatica* nekropside teşhis edilebilmektedir. Trichinellosiste şüpheli hayvanların diyafram, dil, masseter ve boyun bölgesi gibi larvaların çok olduğu kaslardan örnekler alınıp bir miktar kas lam üzerine konur, lamel ve kas parmaklar ile dikkatlice sıkıştırılır ve düşük ışıktaki mikroskop altında *Trichinella* kistleri aranır. *Trichinella* kistleri limon şeklinde, 0.3 x 0.8 mm x 0.2-0.4 mm büyüklüğünde ve genellikle saydam renktedirler. Yaşlı kistler kalsifiye olabilmektedir (10, 18, 19, 23, 31). Bazı helmint türlerinin teşhisinde birden fazla muayene yöntemi de kullanılabilir. Örneğin, Öge ve ark. (21), ratlarda *Syphacia sp.*'nin tanısı için, *S. muris* ile doğal enfekte 102 rat dışkısı üzerinde çalışmış, santrifüjle flotasyon (yüzdürme) yönteminin duyarlılığını % 38, selofan bant yönteminin duyarlılığını % 86 ve her iki yöntemin duyarlılığını % 100 olarak bildirmişlerdir. Dışkı muayenelerinin şekli, tanı için önemli bir kriterdir. *T. crassicauda*'nın yumurtaları idrarda çöktürme yöntemi ile teşhis

edilebilmektedir (10, 21). Helmint türlerine göre yapılabilecek dışkı muayenesi yöntemleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Helmint türlerine göre yapılabilen dışkı muayene yöntemleri (18).

Helmint Türü	Dışkı Muayenesi
Trematod (<i>Fasciola sp.</i> , <i>Dicrocoelium sp.</i>)	Çöktürme (Sedimentasyon)
Cestod ve Nematod (<i>Cittotaenia sp.</i> , <i>Hymenolepis sp.</i> , <i>G. strigosum</i> , <i>Trichostrongylus sp.</i> , <i>N. leporis</i> , <i>N. braziliensis</i> , <i>P. uncinata</i> , <i>P. ambiguus</i> , <i>Syphacia sp.</i> , <i>A. tetraptera</i> , <i>T. leporis</i>)	Yüzdürme (Floatasyon)
Nematod (<i>Strongyloides sp.</i>)	Yüzdürme, larva kültürü

LABORATUVAR HAYVANLARININ HELMİNTOZLARINDAN KORUNMA

Üretim hijyeni bakımından laboratuvar hayvanlarının yetiştirileceği binaların pek çok özelliğe sahip olması gerekmektedir. Bu tür binalar çeşitli hastalık etkenlerini taşıyabilecek yabancı ya da hasta hayvan odaklarından uzak bir yerde yapılmalı, bina giriş çıkışları, hayvan odaları, personel ve işlem odaları bulaşma riskini en aza indirecek şekilde düzenlenmelidir. Hayvanların bulunduğu kısımlarda koridorlar tek yönlü olacak şekilde kirli ve temiz koridorlar düzenlenmelidir. Taban mutlaka drene edilmeli ve taban materyali su ile dezenfektanlara dayanıklı olmalıdır. Ayrıca havalandırma sisteminin de iyi bir şekilde düzenlenmiş olması gerekmektedir. Tüm bu prensipler uygulandıktan sonra laboratuvar hayvanı ünitesinde parazit kaynaklı olsun veya olmasın etkenlerin bulaşmalarını önlemek için kısaca şu temel noktalara dikkat edilmelidir (20):

- Binaya insan giriş ve çıkışı kontrollü bir şekilde yapılmalıdır.
- Dezenfeksiyon odası veya havuzları devamlı etkin halde tutulmalıdır.
- Laboratuvar ünitesindeki odalara hava, su, yem, altlık, ekipman gibi faktörlerin girişi sterilizasyondan sonra yapılmalıdır.
- Hastalık etkenlerinin özellikle kemirgenlerle taşınmasını önlemek için fiziksel bariyerler düzenlenmelidir.
- Temiz, kirli ve enfekte odalara yanlışlıkla girilmesini önlemek için bu odalara işaretler ya da renkli kodlar yerleştirilmelidir.
- Rutin temizlik işlemi düzenli bir şekilde yapılmalıdır.

LABORATUVAR HAYVANLARININ HELMİNTOZLARI İLE MÜCADELE

Laboratuvar hayvanları helmintozlarına karşı mücadele bazı nedenlerden dolayı güç olmaktadır. Örneğin Oxyurid (pinworm) enfeksiyonlarında erişkinlere etki eden antelmentikler larvalara etki etmemektedir. *Syphacia* yumurtaları hızlıca embriyolaşmakta ve konak dışında da canlılığını sürdürebilmektedir. Yine *Syphacia* enfeksiyonlarında hayvanların hareketleri veya personelin müdahaleleri ile retroenfeksiyonlar oluşabilmektedir. Oxyurid enfeksiyonlarında tüm odalar karantina altına alınmalı ve selofan bant testi sonucu negatif çıkıncaya kadar laboratuvar hayvanları antelmentik ile tedavi edilmelidir (22). Pritchett ve Johnston (24) ise laboratuvar farelerinde diğer bir çok hastalıkların aksine Oxyurid enfeksiyonlarının kolayca tedavi edilebileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar (24) sıkı hijyen önlemlerinin bu tür enfeksiyonların yayılmasını engelleyebileceğini vurgulamışlardır. *Trichinella* sp. ve *Hymenolepis* sp. ile mücadele, etkenlerin biyolojisinden dolayı zor olmaktadır. Ancak laboratuvarda bulunan kemirgenleri periyodik olarak ilaçlama ve sıkı hijyen tedbirleri mücadelede etkili olmaktadır. *H. nana*'nın eradikasyonunda yavruların sezeryan ile alınması önem taşımaktadır (24, 31).

Helmint kaynaklı hastalıkların yayılmasında bazı faktörler, laboratuvar hayvanlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Örneğin erişkin ratlarda neonatal stresin, *N. braziliensis*'in görülme sıklığını artırabileceği bildirilmiştir (24). Bazzano ve ark. (4), yaptıkları çalışmada yaşlı farelerin *S. obvelata*'ya karşı gençlerden daha dayanıklı olduğunu ve enfeksiyonun 4-5 haftalık farelerde daha sık görüldüğünü belirlemişlerdir. *Cittotaenia* enfeksiyonlarında da en çok yavru tavşanlar etkilenmektedir (10).

Laboratuvar hayvanları ile mücadelede bazı alternatif yöntemler de denenmiştir. *S. papillosus*'un serbest yaşayan gelişme dönemlerinin kontrolü için *Arthrobotrys oligospora* denen ve nematod yiyen (nematophagous) bir mantar türüyle çalışma yapılmış, neticede adı geçen mantarın biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (11). Ayrıca Suleiman ve ark. (28) yaptıkları bir çalışmada, *Xylopiia aethiopica* (Etiyopya biberi) adlı bitkinin metanol ekstresinin, ratlarda *N. braziliensis*'e karşı 1.2 gr/kg ve 2 gr/kg dozunda oldukça etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Laboratuvar hayvanlarının helmintleri ile mücadelede önemli olan bir nokta da laboratuvar hayvanı olsun veya olmasın hayvan hastalıklarının koruyucu ve iyileştirici tedavileri için ilaç kullanımını söz konusu olduğunda mutlaka bir veteriner hekime başvurmak gerekmektedir. Laboratuvar hayvanlarında helmint kaynaklı hastalığın doğru tanısı yapıldıktan sonra en kısa sürede ilaç ile tedaviye geçilmelidir. Bunun yararları şunlardır (29).

- Hasta hayvanların ileri derecede zayıflayarak vücut direncinin sakıncalı boyutlarda kırılması önlenir.
- Hastalığın güçlüğüle tedavi edilebilen kronik evreye geçmesi önlenir.
- Helmintlere karşı direnç gelişme durumu belli olanaklar ölçüsünde engellenebilir.
- İlaçla sağaltımın en etkili döneme rastlama şansı artırılabilir.

Laboratuvar hayvanlarının helmintlerine karşı çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar Tablo 2 ve Tablo 3'de özetlenmiştir. İlaçlama ile birlikte laboratuvarda sıkı temizlik ve hijyen tedbirlerinin alınması, eğitimli personelin bulunması laboratuvar hayvanlarında helmint kaynaklı hastalıkları oldukça azaltmaktadır.

Tablo 2. Tavşan parazitlerinin tedavisi (10).

Parazit Türü	İlaç	Uygulama
<i>Fasciola</i> sp.	Rafoxanide	6-7 mg/kg p.o. (per os, ağız yolu ile)
	Nitroxynil	10 mg/kg p.o.
<i>Cittotaenia</i> sp.	Praziquantel	10 mg/kg p.o.
<i>Strongyloides</i> sp.	İvermektin	0.2-0.4 mg/kg deri altı bir hafta ara ile iki kez
	Albendazole	100 mg/kg p.o., günde iki kez 3 gün
<i>Obeliscoides</i> sp.	Febantel	10 mg/ kg p.o.
	Fenbendazole	5-10 mg/kg p.o.
	Menbedazole	20 mg/kg p.o.
	Thiabendazole	70 mg/kg 4 saat ara ile 8 doz halinde uygulanırsa larvalara karşı etkilidir.
<i>Graphidium</i> sp.	Febantel	10 mg/kg p.o.
<i>Trichostrongylus</i> sp.	Fenbendazole	5-10 mg/kg p.o.
<i>Passalurus</i> sp.	Mebendazole	20 mg/kg p.o.

Tablo 3. Rodent (Kemirgen) parazitlerinin tedavisi (10, 14, 21).

Parazit Türü	İlaç	Uygulama
Oxyuridae ailesine bağlı nematodlar	Fenbendazole	Yem içine 50 ppm.
	Thiabendazole	Yem içine 100-400 mg/kg
	Mebendazole	Yem içine 40-500 mg/kg
	Uredefos	İçme suyuna 25 mg/kg
	Piperazin citrate	2-10 gr/lt içme suyuna 7 gün, 7 gün ara ile tekrar
<i>Trichosomoides crassicauda</i>	Methyridine	100 mg/kg deri altı tek doz
<i>Nippostrongylus braziliensis</i>	Albendazole	20 mg/kg p.o.
<i>Paraspidodera uncinata</i>	Fenotiyazin	1 gr fenotiyazin 20 gr kobay yemine katılır
Cestod	Niclosamide	100 mg/kg p.o. tek doz
	Uredefos	25 mg /kg içme suyu ile
	Thiabendazole	%0.3'lük veya 125 ppm yem içinde, 7-14 gün
	Praziquantel	30 mg/kg p.o.
	Rotenone	%0.5-1'lik tek doz

KAYNAKLAR

- Altaş, M., İriadam, M. (2003) *Helmintozoonozlar*. HR. Ü. Z. F. Dergisi, 7 (3): 45-53.
- Assis, B.C.A., Cunha, L.M., Babtista, A.P., Andrade, Z.A. (2004) *A contribution to the diagnosis of Capillaria hepatica infection by Indirect Immunofluorescence Test*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 99 (2): 173-177.
- Bakışkan, V., Şahin, İ., Eremmemişoğlu, A. (1989) *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Araştırma laboratuvarındaki deney farelerinde koproparazitolojik bir araştırma*. T. Parazitol. Derg., 13 (3-4): 91-94.
- Bazzano, T., Restel T.I., Pinto R.M. (1997) *Gomes DC. Patterns of infection with the Nematodes Syphacia obvelata and Aspicularis tetraptera in conventionally maintained laboratory mice*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 6: 847-853.
- Behm, C.A., Sangster, N.C. (1999) *Pathology, pathophysiology and clinical aspects*. pp: 183-224. In: Dalton, J.P. (Ed): Fascioliosis.. Cabi Publishing. Wallingford, Oxford, UK.
- Bıyıkhoğlu, G., Öncel, T. (2003) *Yabani tavşanda Passalurus ambiguus (Rudolphi, 1819) bulgusu*. T. Parazitol. Derg., 27 (3): 199-200.
- Boschert, K. (2002) *Internal parasites of rabbits*, <http://netvet.wustl.edu>
- Bowmann, D.D., Lynn, R.C. (1995) *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. W. B. Saunders Company, USA.
- Bugarski, D., Jovcic, G., Katic-Radivojevic, S., Marijana, P., Krstic, A., Stojanovic, N., Milenkovic, P. (2006) *Hematopoietic changes and altered reactivity to IL-17 in Syphacia obvelata-infected mice*. Parasitol. Int., 55: 91-97.
- Burgu, A., Karaer, Z. (2005) *Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıklarında Tedavi*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay. No: 19, İzmir.
- Chandrawathani, P., Omar, P., Waller P.J. (1998) *The control of the free-living stages of Strongyloides papillosus by the nematophagous fungus, Arthrobotrys oligospora*. Vet. Parasitol., 76 (4): 321-325.
- Cosoroabă, I., Orjanu, N. (1998) *Congenital trichinellosis in the rat*. Vet. Parasitol., 77: 147-151.
- Doğanay A., Gürler, A.T. (2005) *Ankara'da tavşanlarda solunum ve sindirim helmintlerinin yayılışı*. Sözlü Bildiri (SB03-8). XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi. İzmir.
- Fremont, J.J., Bowman, D.D. (2003) *Parasites of guinea pigs*. <http://www.ivos.org>
- Güralp, N. (1981) *Helmintoloji*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay. No: 368/266, Ankara.
- Hanes, M. (1999) *Diseases of Hamsters*. <http://www.afip.org/vetpath/POLA/99/1999-POLA-Mesocricetus.htm>
- Houi, F.H., Wu-Chun T., Hsiu-Hsiung, L., Chen, K., Chou, H.L., Lai, S. (2004) *Elevation of plasminogen activators in cerebrospinal fluid of mice with eosinophilic meningitis caused by Angiostrongylus cantonensis*. International Journal for Parasitology, 34: 1355-1364.

18. **Kassai, T.** (1999) *Veterinary Helminthology*. Butterworth Heinemann, A Division of Reed Education and Professional Publishing Ltd., Great Britain.
19. **Kaya, G.** (2003) *Parazitoloji Temel İlkeler ve Laboratuvar Teknikleri*. Mustafa Kemal Üniv. Vet. Fak.Yay. No:1, Hatay.
20. **Nazlıgül, A.** (1998) *Laboratuvar Hayvanları Yetiştiriciliği*. Adnan Menderes Üniv.Yay. No: 4, Aydın.
21. **Okursoy, S.** (1997) *Tavşan ve rodentlerde görülen parazitler hastalıkları ve tedavileri*. T. Parazitol. Derg., 21 (2): 327-322.
22. **Öge, H., Ayaz, E., İde, T., Dalgıç, S.** (2000) *The effect of doramectin, moxidectin and netobimin against natural infections of Syphacia muris in rats*. Vet. Parasitol., 88: 299-303.
23. **Özcel, N., Altıntaş, N.** (1997) *Parazit Hastalıklarında Tanı*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay. No: 15, İzmir.
24. **Prichett, K., Johnston, N.** (2002) *A review of treatments for the eradication of pinworm infections from laboratory rodent colonies*. Contemp. Top. Lab. Anim. Sci., 41: 31-41.
25. **Roberts, L.S., Janovy, J.Jr.** (1996) *Trichinellidae*. pp:389-395. In: Gerald, D. S., Larry, S. (Eds): Roberts' Foundations of Parasitology. 5th ed., Wm.C.Brown Publishers, London.
26. **Ross, C.R., Wagner, J.E., Dill S.E.** (1980) *Experimental transmission of Syphacia muris among rats, mice and gerbils*. Lab. Anim. Sci., 30 (1): 35-37.
27. **Soulsby, E.J.L.** (1986) *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. Baillière Tindall, Great Britain.
28. **Suleiman, M.M., Maman, M., Aliu, Ajanusi, J.O.** (2005) *Anthelmintic activity of the crude methanol extract of Xylopiya aethiopyca against Nippostrongylus brasiliensis in rats*. Veterinarski Arhiv., 75 (6): 487-495.
29. **Şanlı, Y.** (1998) *Veteriner İlaçları Rehberi ve Bilinçli Kullanımı El Kitabı*. s: 834-835. Ankara.
30. **Tınar, R., Korkmaz, M.** (2003) *Fascioliosis*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay. No:18, İzmir.
31. **Toparlak, M., Tüzer, M.E.** (2002) *Veteriner Helmintholoji*. İstanbul Üniv. Vet. Fak., Parazitoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
32. **Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings F.W.** (1996) *Veterinary Parasitology*. Blackwell Science Ltd., Great Britain.
33. **Yazar, S., Hamamcı, B., Ünver, A.C., Şahin, İ.** (2002) *Ratlarda bağırsak parazitlerinin yaygınlığının araştırılması*. T. Parazitol. Derg., 26 (2): 212-213.

Yazışma Adresi:

Arş. Gör. Hakkı ÜNLÜ
 Adnan Menderes Üniv. Veteriner Fakültesi
 Parazitoloji Anabilim Dalı, Batı Kampüsü, 09016, Işık/AYDIN
 e-mail: telipinu78@hotmail.com

BORNOVA VETERİNER KONTROL VE ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ DERGİSİ YAYIN KURALLARI

1. Dergi, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün bilimsel yayın organı olup, yılda bir kez yayınlanır. Derginin kısaltılmış adı Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.'dir.
2. Dergide, Türkçe ve yabancı dilde (tercihen İngilizce) hazırlanmış, tamamı yada bir kısmı daha önce başka bir yerde yayınlanmamış olan Veteriner Hekimlikle ilgili orijinal bilimsel araştırmalar, derlemeler, gözlemler ve Enstitü çalışmaları ile ilgili bilgiler yayımlanır. Derleme şeklindeki yazılar, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi ve klasik bilgilerin tekrarı olmaması durumunda kabul edilir.
3. Yazılar A-4 (210x297 mm) formunda beyaz kağıda, çift aralıklı, kağıdın üstünden ve soldan 2,5 cm, sağdan ve alttan 2 cm boşluk bırakılarak ve 12 pt kullanılarak yazılmalıdır. Yazılar şekil ve tablolar dahil olmak üzere, orijinal makalelerde 15, derlemelerde 10 ve gözlemlerde 5 sayfayı geçmemelidir.
4. Yazılar, Microsoft Word programında yazılmalı ve orijinalinin yanı sıra iki adet kopyası ve disketi ile birlikte gönderilmelidir. Kopyalarda yazar adı ve yazara ait bilgiler bulunmamalıdır.
5. Tablo, şekil ve grafikler: Her tablo, şekil ve grafik, başlık ve dipnotları ile birlikte ayrı bir sayfaya çift aralıklı olarak ve rakam ile örnekteki gibi (Tablo 1, Tablo 2.....) metinde geçtiği sıraya göre yazılmalıdır. Tablolar mutlaka Word programında tablo eklentisi içinde yazılarak makale disketi içinde bulunmalıdır. Fotoğraflar siyah-beyaz, net ve parlak fotoğraf kağıdına basılmış olmalı (9 x 13 cm) yada bilgisayarda JPG, TIFF ve GIF formatında hazırlanmış şekli gönderilmelidir. Renkli fotoğraflar ve fotokopileri kabul edilmez.
6. Orijinal araştırma çalışmaları, konu başlığı, yabancı dilde başlık, yazar / yazarların adları, Türkçe özet ve anahtar kelimeler, yabancı dilde özet ve anahtar kelimeler, giriş, materyal ve metot, bulgular, tartışma ve sonuç, kaynaklar sırası ile hazırlanmalıdır. Ayrıca metnin sonuna sayfa üst bilgisi için konuyu açıklayıcı birkaç kelimedenden ibaret kısa bir başlık belirtilmelidir. Yabancı dilde yapılacak yayınlarda da aynı sıra takip edilmelidir.
7. **Konu başlığı**, kısa ve açık olmalı ve büyük harflerle Türkçe ve İngilizce olarak yazılmalıdır.
8. Yazar / yazarların ad ve soyadları, ünvan belirtilmeksizin yazılmalı ve yazar soyadlarına konacak rakamlar ile yazarların ünvanları, çalıştıkları kurum adresleri ve makale hakkında notlar birinci sayfanın en altında dipnot olarak belirtilmelidir.
9. **Özet**, Türkçe ve yabancı dilden 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde hazırlanmalı ve alt kısımlarına Türkçe ve yabancı dilden anahtar kelimeler yazılmalıdır.
10. **Giriş** bölümünde çalışma ile doğrudan ilgili kısa literatür bilgileri verildikten sonra, son paragrafta çalışmanın amacı vurgulanmalıdır.
11. **Materyal ve Metot** bölümünde materyallerin nasıl ve ne şekilde toplandığı ve saklandığı ayrıntılı olarak yazılmalıdır. Bu bölümde, bilinen klasik metotlar için gereksiz ayrıntıya girmeden öz ve anlaşılır biçimde bilgi verilmeli, yeni yöntemler ise ayrıntılı şekilde açıklanmalıdır.
12. **Bulgular** araştırmanın niteliğine göre mantıklı bir sıra içinde verilmeli ve kısa bir şekilde açıklanmalıdır.
13. **Tartışma ve sonuç** bölümünde veriler, konuyla ilgili diğer kaynaklardaki bulgular ile karşılaştırılmalı ve yorumlanmalıdır.
14. **Kaynaklar** bölümünde, yazı içinde yer alan tüm kaynaklar alfabetik sıraya göre yazılmalıdır. Metin içerisinde her kaynağa ait numara, ilgili olan cümlenin sonunda parantez içinde belirtilmelidir. Kaynak yazımında yazar adları kalın, yayın adı italik yazı karakteri ile

yazılmalıdır. Dergi adlarının kısaltılmasında “Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation” son baskısı esas alınmalıdır.

Sürelî Yayın:

Alterkuse, S.F., Hunt, J.M., Telleffson, L.K., Madden, J.M. (1995) *Food and animal sources of human Campylobacter jejuni infection*. JAVMA, 204 (1): 57-61.

Yazarlı kitap:

Stahr, H.M. (1977) *Analytical Toxicology Methods Manuel*. pp: 39-46. Iowa State Univ. Press, Ames, USA.

Editörlü Kitap:

Editörlü kitapta bölüm (önce yazar / yazarlar, alındığı bölüm ve sayfalar, daha sonra editör, alındığı kitap adı , basımevi ve basımyeri) yazılmalıdır.

Popoff, M. (1984) *Aeromonas*. 545 –546. In: Krieg, M.R., Holt, J. G. (Eds): *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*. Vol.1, Williams and Wilkins, Baltimore, London.

Kongre bildirisi:

Entrala, E., Mascaro, C. (1994) *New structural findings in Cryptosporidium parvum oocysts*. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII), October 10-14, İzmir, Turkey.

Tez:

Türe, O. (1991) *Studies on the viral proteins of infectious bursal disease viruses*. Doktora Tezi, The Ohio State University, Columbus, OH, USA.

15. Son sayfada yazara ve araştırmaya yardımcı olan kişi ve kuruluşlara ilişkin bilgiler ve teşekkür yazıları yer alabilir.
16. Gönderilen makalelere tüm yazarlar tarafından imzalanmış Telif Hakkı Devir Sözleşmesi eklenmelidir.
17. Hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda Etik Kurul Onayı aranır.
18. Dergide yayımlanan makaleler ile ilgili her türlü sorumluluk yazarlarına aittir. Yayın kurulunun yayımla ilgili kararı yazara/yazarlara bildirilir. Yayınlanması uygun olmayan yazılar yazara/yazarlara iade edilmez
19. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

GUIDELINES FOR THE JOURNAL OF BORNOVA VETERINARY CONTROL AND RESEARCH INSTITUTE

1. This journal is the scientific publication of the Bornova Veterinary Control and Research Institute Directorate which is published once a year. The designation of the journal is Journal of Bornova Vet. Cont. Res. Inst.
2. In the journal, original scientific research papers, review articles, and case reports related to Veterinary Medicine and information related to the activities of the institute which are written in Turkish or in a foreign language (preferably in English) are published. The manuscripts, in part or as a whole should not have been previously published elsewhere. The review articles are accepted for publication only if they are original and consists of the latest developments and are not the repetition of the classical information.
3. The manuscripts should be written on a A4 type (210x297mm) white paper using double space and 12 pt letters. The margins should be as follows: 2.5cm from the top and the left side and 2 cm from the right side and the bottom of the page. Including the figures and the tables, the manuscripts should not exceed 15 pages for the original articles, 10 pages for reviews and 5 pages for the case reports.
4. The manuscripts should be written in Microsoft Word program and submitted one original and two copies along with a diskette that has the manuscript. The copies should not include the name of the author and any other information related to the author.
5. Tables, figures and graphs: Each table, figure and graph, along with their legends and footnotes should be written with double space as shown in the example (Table 1, Table 2) on a separate sheet according to the sequence they were used in the text. The tables must be prepared in table format of the Word program and should be included in the manuscript diskette. The photographs should be black and white and printed on a high quality glazed paper (9x13) or the JPG, TIFF and GIF formatted computer preparations should be sent. Color prints of the photographs or their copies are not accepted.
6. Original research papers; the title of the article in Turkish and in a foreign language, author/authors' names, summary in Turkish, keywords, summary in English and keywords, introduction, materials and methods, discussion and results, references should be prepared in this order. Also a short title describing the subject should be given at the end of the article for a running head at the top of the page. The same order should be followed in manuscripts that will be published in a foreign language.
7. **Title of the article:** It should be short, clear and written with capital letters in Turkish and in English.
8. The names of the author/authors should be written without mentioning their academic degrees. The academic degrees of the authors, the affiliations and work addresses and the notes about the article should be indicated as a footnote at the bottom of the first page by pointing the last name of the authors with different numbers.
9. **Summary:** It should be prepared in Turkish and in English and should not be more than 200 words. The keywords should be included at the end, both in Turkish and in English.
10. **Introduction:** In this section, a short literature information directly related to the work should be given and the objectives of the study should be emphasized at the last paragraph.
11. **Materials and Methods:** In this section, detailed information on how the materials were collected and stored should be written. The commonly used classical methods should be stated briefly and clearly without giving detailed information, however the new techniques should be described in detail.
12. **Results:** According to the nature of the research, the results should be presented in logical order and should be explained briefly.

13. **Discussion and Results:** In this section, the data should be compared with the results of the other references related to the subject and interpreted accordingly.
14. **References:** The references that are cited in the text should be listed in alphabetical order. In the text, the number belonging to each reference should be cited in paranthesis at the end of the sentence. While forming the reference list, the names of the authors should be written in bold and the name of the reference in *italic* characters. For the designations of the journals, the latest eddition of the Periodical Title Abbreviations; By Abbreviation should be referred.

Periodicals:

Alterkuse, S.F., Hunt, J.M., Tellefson, L.K., Madden, J.M. (1995) *Food and animal sources of human Campylobacter jejuni infection*. JAVMA, 204 (1): 57-61.

Book with Author:

Stahr, H.M. (1977) *Analytical Toxicology Methods Manuel*. pp: 39-46. Iowa State Univ. Press, Ames,USA.

Book with Editor:

In books with editor, the author/authors, the section and the pages that the information is taken, the editor, the book that this section belongs to, the publisher and the place to be printed should be written.

Popoff, M. (1984) *Aeromonas*. 545-546. In: Krieg, M.R., Holt, J.G. (Eds): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol.1, Williams and Wilkins, Baltimore, London.

Congress Papers:

Entrala, E., Mascaro, C. (1994) *New structural findings in Cryptosporidium parvum oocysts*. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII), October 10-14, İzmir, Turkey.

Thesis:

Türe, O. (1991) *Studies on the viral proteins of infectious bursal disease viruses*. Ph.D. Thesis, The Ohio State University, Columbus, OH, USA.

15. Information and acknowledgements related to the people and institutions that helped to the author and to research can take place at the last page.
16. The papers must be submitted with a Copright Release Form signed by all authors
17. The scientific articles on animals must be submitted with an Ethic Committee approval.
18. All responsibilities on the papers published in the journal belong to the authors. The decision of the editorial board is notified to the author of the manuscripts. The papers that were not approved for publication are not returned to the author.
19. Copright fee is not paid to authors.

TELİF HAKKI DEVİR SÖZLEŞMESİ
Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi

Makalenin Başlığı:.....

.....
.....

Yazar/Yazarlar ve tam isimleri:

.....
.....
.....

Yayından sorumlu yazarın adı-soyadı, adresi ve iletişim bilgileri:.....

.....
.....
.....
.....

Biz aşağıda ad-soyad ve imzaları bulunan yazarlar, yukarıda başlığı belirtilen makalemizin tarafımızdan yapılmış özgün bir çalışma olduğunu, başka bir dergide yayınlanmadığını ve yayına sunulmadığını, bütün yazarların gönderilen makaleyi gördüğünü garanti ederiz ve makalenin tüm sorumluluğunu üstleniriz.

Aşağıdaki maddelerde belirtilen haklarımız saklı kalmak kaydı ile makalenin telif hakkını Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ve imza ederiz.

- a) Telif hakkı dışındaki patent hakları,
- b) Yazarların ders, kitap gibi çalışmalarında, sözlü sunumlarında ve konferanslarında makaleyi ücret ödemeksizin kullanabilmeleri,
- c) Satış amaçlı olmayan kendi faaliyetleri için makaleyi çoğaltmaları.

Bu belge tüm yazarlar tarafından imzalanmalıdır. Belgenin bağımsız kopyaları farklı kuruluşlarda bulunan yazarlar tarafından imzalanabilir. Fakat tüm imzalar özgün olmalıdır.

Yazarların Adı-Soyadı

İmza

Tarih

.....
.....
.....
.....
.....
.....

Copyright Release

Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute

Manuscript title:.....

.....
.....

Full names of all authors:

.....
.....
.....

Name, address and contact information of corresponding author:.....

.....
.....
.....
.....

We, the undersigned author/authors, warrant that the manuscript with the above mentioned title is an original work, has not been previously published and is not being submitted for publishing elsewhere, and that all authors have seen and approved the manuscript as submitted. We, all authors participated in the work, accept responsibility for releasing the work.

We, the undersigned author/authors, stipulate and sign that copright of the above mentioned manuscript is transferred to Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute, effective on acceptance for publishing, except for all proprietary rights other than copyright, such as

- a) patent rights,
- b) to use, free of charge, this article for the author's future works in books, lectures or oral presentations,
- c) the right to reproduce the article for their own purposes, provided that the copies are not offered for sale.

This copyright form must be signed by all authors. Separate copies of the form may be submitted by authors located at different institutions. However, all signatures must be original.

Authors Name and Surname	Signature	Date
--------------------------	-----------	------

.....
.....
.....
.....
.....

DANIŐMA KURULU/ADVISORY BOARD

Prof. Dr. Ferda AKAR Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Yılmaz AKÇA, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Arif ALTINTAŞ, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Nejat AYDIN, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. İbrahim BURGU, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Haşmet ÇAĞIRGAN, Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakóltesi
Prof. Dr. Tayfun ÇARLI, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Meltem ÇETİN, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Bilal DİK, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Ahmet DOĞANAY, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Hasan EREN, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Hüdaverdi ERER, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Osman ERGANİŞ, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. İrfan EROL, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Ulvi Reha FİDANCI, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Merih HAZIROĞLU, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Rıfki HAZIROĞLU, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Zafer KARAER, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Sezai KAYA, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Kamil ÖCAL, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Aytekin ÖZER, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Edip ÖZER, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Ayhan ÖZKUL, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Sadettin TIPIRDAMAZ, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Doç. Dr. Hülya TÜRÜTOĐLU, Mehmet Akif Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Őinasi UMUR, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Prof. Dr. Sibel YAVRU, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakóltesi
Enstitümüz Uzmanları DanıŐma Kurulunun diğer üyeleridir.

Enstitümüz Uzmanları DanıŐma Kurulunun diğer üyeleridir.

*İsimler soyadına göre alfabetik sırayla yazılmıştır.