



CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

Journal of Health
Science Institute

2016

2016

Hakemli Bilimsel Dergi

Peer - Reviewed Scientific Journal

Prof.Dr. Zahid T. AĞAOĞLU
Baş Editör
Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD.
Sivas- TR- Türkiye

Doç.Dr. Barış Atalay USLU
Editör
Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Sun'i Tohumlama AD.
Sivas- TR- Türkiye

Prof.Dr. Sait Şendağ
Dil Editörü
YYÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji AD.
Van- TR- Türkiye

EDİTORIAL BOARD

Prof. Dr. Abuzer ACAR
Kocatepe Üniversitesi Afyon- TR- Türkiye

Prof. Dr. Axel Wehrend
Justus - Liebig Universität, Frankfurter Str. 106
35392 Giessen

Dr. Bahat COMBA
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Van-TR Türkiye

Prof. Dr. Bahtiyar BAKIR
Gazi Üniversitesi Ankara TR Türkiye

Dr. Ü. Bora BARUTÇU
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fak.
İstanbul- TR- Türkiye

Dr.Erman OR
İstanbul Üniversitesi İstanbul- TR- Türkiye

Prof. Dr. Fatih ATASOY
Ankara Üniversitesi Ankara- TR- Türkiye

Prof. Dr. Fetih GÜLYÜZ
Akdeniz Üniversitesi Antalya- TR- Türkiye

Dr. Maria Luisa MARENZONİ
University of Perugia, via S. Costanzo 4, 06126
Perugia, ITALY,

Dr. Mehmet ÇİTİL
Kafkas Üniversitesi Kars TR Türkiye

Dr. Nikolaos K. PANOUSIS, DVM,
Aristotle University of Thessaloniki PC 541 24, Thessaloniki,
Greece

Prof. Dr. Nuri ALTUĞ
Namık Kemal Üniversitesi Tekirdağ TR Türkiye

Dr. Zafer KARAER
Ankara Üniversitesi Ankara- TR- Türkiye

Prof. Dr. Mecit YÖRÜK
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Van-TR Türkiye

İÇİNDEKİLER

1. İlaç Tanıtım ve Pazarlama Faaliyetlerinin Önemi
Tolgay ERCAN, Mehmet TOP.....01-07
2. Terapötik Newcastle Disease Virus (NDV)'un İmmun Sistem ve İnsan
Tümör Hücreleri ile Etkileşimi: Onkolitik Viroterapi
Bahattin Taylan KOÇ.....08-18
3. In vitro Antimicrobial and Antioxidant activities and Chemical Composition
of Essential Oils of the Leaf and Flower of *Origanum minutiflorum* O.
Schwarz et. P. H. Davis
İsmihan GÖZE, Ahmet ALİM, Nazlı ERCAN, Nilüfer VURAL.....19-24
4. Köpeklerde Spermanın Alınması, Saklanması ve Suni Tohumlamada
Kullanılmasına Kısa Bir Bakış
Oğuzhan KALKAN, Ömer UÇAR.....25-36
5. Kuzularda Neonatal Mortalite
Uğur AYDOĞDU.....37-46
6. Kangal Irkı Köpeklerin Spermalarının Kriyoprezervasyonunda Sığır Serum
Albüminin Etkisi
Alper KOÇYİĞİT, Barış Atalay USLU.....47-52
7. Van İl'inde 2010-2011 Yılı Tüberküloz İnsidansını Etkileyen Faktörler
Leyla MİS, Remzi KARASUNGUR.....53-62
8. Mardin Bölgesi İçme Sularında Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması
Semih YAŞAR, Muhammed Abdullah ÜSTEK, Aydın Şükrü BENGÜ, Leyla MİS.....63-71



İlaç Tanıtım ve Pazarlama Faaliyetlerinin Önemi

Tolgay ERCAN¹, Mehmet TOP²

¹Gen İlaç ve Sağlık Ürünleri, Ankara.

²Hacettepe Üniversitesi İİBF Sağlık İdaresi Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi / Received
17.11.2016

Kabul Tarihi / Accepted
22.12.2016

Yayın Tarihi / Published
31.12.2016

Özet: İlaç Sektörü insan hayatını ve sağlığını ilgilendiren bir konu olduğundan geçmişten günümüze ele alındığında tek başına değerlendirilmesi mümkün değildir. İlaç sektörü bilgi ve teknolojik gelişim ile devamlı olarak temas halindedir. Bazı bilimlerden direkt olarak etkilenirken bazı bilimlerden de dolaylı yoldan etkilenmektedir. Kimya bilimi ile yeni moleküllerin keşfi, teknoloji ile bu moleküllerin hayata geçirilmesi, toplum bilimleri ile de toplumun tamamına yönelik çalışabilecek etik değerleri ortaya koymak zorundadır. Sonuçta verilecek tedavi yöntemlerinin o toplumun tamamı tarafından kabul edilebilir ve o toplumun gelenek, görenek ve tutumlarını da sergileyen bir tedavi yönteminin de belirlenmesi gerekmektedir. Bu yönde firma temsilcileri, doktorlar, kamu görevlileri ve hastalar etik değerler doğrultusunda hareket etmeli ve de akılcı ilaç kullanımına destek vermelidirler.

Anahtar Sözcükler: Tıbbi ürün tanıtım temsilcisi, Akılcı ilaç kullanımı, İlaç Tanıtım ve Pazarlama, Türk İlaç Sektörü

Importance of Drug Promotion and Marketing Activities

Abstract: Because of the Pharmaceutical Industry is a matter of concern for human life and health, it can't be evaluated alone when it is taken up on a daily basis. The pharmaceutical industry is constantly in contact with information and technological development. While it is directly influenced by some sciences, it is indirectly influenced by some sciences. With the discovery of new molecules through chemical science, the passing of these molecules through technology, and the social sciences as well as the ethical values that can work towards the whole of the society. The resulting treatment modalities can be accepted by the whole community, and a treatment modality that exhibits the traditions, customs and attitudes of that community also needs to be identified. In this way, company representatives, doctors, public officials and patients should act in line with ethical values and support rational drug use.

Keywords: Medicinal Product Promotion Representative, Rational Drug Use, Drug Promotion and Marketing, Turkish Drug Industry

Sorumlu yazar: Tolgay ERCAN
Adres, Gen İlaç ve Sağlık Ürünleri, Ankara
e-mail: tolgayercan@yahoo.com

1. GİRİŞ

İlaç sektörü dünyadaki en önemli sanayiler arasındadır. Türkiye’de ilaç sektörü 56 çok uluslu firma olmak üzere 31 bin çalışanı ve 300 firma ile faaliyet göstermektedir (1,8). İnsan sağlığına yönelik olmasından dolayı değişen dünyamızda yoğun AR-GE çalışmalarını da içeren sürekli ilerlemekte olan bir sektör haline gelmiştir. İlaç sektörü dünyada AR-GE yatırımlarına en fazla pay ayıran ve en fazla yatırım yapan sektörler arasındadır (11).

Dünya nüfusunun artışı, toplumların refah seviyesinin yükselmesi, demografik özelliklerin toplum ihtiyaç ve taleplerini değiştirmesi, yaşam koşullarının değişim göstermesi ve dünyanın ekosisteminin de etkilenmesi gibi nedenlerden dolayı, insanlarda görülen sağlık sorunları da çeşitlenerek artmaya devam etmektedir. Bu bağlamda ilaç sektörü, hayat standardının artmasında, insan ömrünün uzamasında ve sürdürülebilir bir sağlık sektörünün inşasında oynadığı rol itibarıyla, kritik öneme sahip stratejik bir sektördür (1). Sağlık harcamaları içinde ilaç ve benzeri ürünlere yapılan harcamalar sürekli artış eğilimi göstermektedir. Toplam sağlık harcamaları ülkelere göre değişmekle birlikte genel olarak bu oran %30-40’dır. İlaç sektörü ile ilgili olarak maliyetlerin kontrol altına alınması, rasyonel ilaç kullanım politikalarının geliştirilmesi, hekim ve hastalarda bilinçli ilaç kullanımının geliştirilmesi, ilaç pazarlamasında kullanılan tıbbi ürün tanıtım elemanlarının etik kurallara uyması, ilaç ve de elektronik reçete/doz takip sistemlerinin geliştirilmesi gibi noktalar ülkelerin sağlık politikalarında çözmesi gereken unsurlar arasında yer almaktadır (4,7,9,12).

İlaç pazarlaması kendine özgü nitelikler taşımaktadır. İlaç tanıtımı yapılırken sadece ilacı satmak amaçlanmamalı, aynı zamanda bilinçli ilaç tüketimi, ilaçların yan etkileri de (advers) özenle

doktorlara anlatılmalıdır. İlaç pazarlamasında tıbbi ürün tanıtım temsilcileri önemli rol ve fonksiyonlara sahiptir. Günümüzde mobil iletişim, internet teknolojisi ve bilgisayar yazılımlarının gelişmesindeki yenilikler ilaç tanıtımı ve pazarlamasını da güçlendirmiştir. Artık ilaç sektörü birebir tıbbi ürün tanıtım temsilcileri ile birlikte dijital platformu esas alan iletişim tekniklerinden de yararlanmaktadır. İlaç pazarlaması içerisinde eczacılık hizmetlerinin de pazarlamada etkileyici bir unsur olarak yer almasıyla suiistimaller ve rasyonel olmayan ilaç kullanımının da önüne geçilmektedir (7,14).

3 Temmuz 2015 tarihli Beşerî Tıbbi Ürünlerin Tanıtım Faaliyetleri Hakkındaki Yönetmeliğe göre; beşeri tıbbi ürün tanıtımını, “ürünlerin tıbbi-bilimsel özellikleri hakkında ruhsat/izin sahipleri tarafından düzenlenen veya ruhsat/izin sahiplerinin adı, talebi, katkısı, desteği ile sağlık meslek mensuplarına gerçekleştirilecek bütün bilgi verme faaliyetlerini; bu çerçevede ürün tanıtım temsilcilerinin aktivitelerini, tıbbi ve mesleki kitap ve dergilere verilecek ilanları, doğrudan postalama veya diğer iletişim araçları yoluyla yapılacak duyuruları, bilimsel ve ürün tanıtım toplantılarını ve benzeri etkinlikler ile yapılacak faaliyetler” olarak tanımlamıştır (3).

İlaç tanıtımı faaliyetleri doktorların yeni ilaçlar hakkında bilgilendirilmeleri açısından çok büyük önem taşımaktadır (2). İlaç sektöründe tanıtım çalışmaları, günümüzde giderek artan biçimde sağlık profesyonellerinin ve toplumların gündemine girmeye başlamıştır. Türkiye’de ilaç ve beşerî tıbbi ürünlerin tanıtım çalışmalarının neden olabildiği etik dışı sorunlar çeşitli çevrelerde çoğunlukla tartışma konusu olabilmektedir. Yasal tanıtım çalışmalarının yanı sıra, yasal olmayan uygulamaların da pazarlama yöntemlerinin olumsuz etkileri olarak araştırma konusu olmuştur (5).

İlaç sektörü unsurlarından birisi olan tıbbi ürün tanıtım temsilcileri ise ilaç firmalarının doktor ve eczacılarla ilişkisini / iletişimini sağlayan kişilerdir. İlaç tanıtım reklamlarının yasak olması nedeniyle tıbbi ürün tanıtım temsilcileri doktor, diş hekimi ve eczacılara ilaçları tanıtmak görevini yapanlardır (6).

İletişim, pazarlama ve tanıtımın vazgeçilmez bir ögesidir. Doğru ve etkili bir iletişim hem insan sağlığını korur hem de tanıtım ve pazarlama faaliyetlerinde de dinamik bir sürecin devamlılığını sağlar. İlacı tercih eden doktor, tüketen hasta olduğundan, doğru ve etkili bir iletişimde tıbbi ürün tanıtım temsilcilerine çok büyük görev ve sorumluluklar düşmektedir. Doktor, diş hekimi ve eczane ziyaretlerindeki iletişimi, beden dili ve diksiyonu çok önemlidir (7).

Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcisi ziyaretlerinde tanıtım materyalleri kullanırken güncel medikal bilgilerini de en iyi şekilde aktarabilmelidir. Tanıtım ve pazarlama faaliyetleri esnasında ihtiyaç-talep odaklı çalışmalı, karşısındaki kişiye ihtiyacı ortaya çıkaran sorular yönelirken, aynı zamanda çok iyi birer dinleyici olduklarını da göstermelidirler. Ancak bu sayede ziyaretlerinde doğru mesajı verebilirler. İlaç tanıtım ve pazarlama faaliyetlerinde doktor, diş hekimi ve eczacıdan gelen geribildirimlerin doğru bir şekilde alınması hem Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcileri hem de firmanın kurumsal gereklilikleri açısından önemlidir. Ürün tanıtım ve pazarlama faaliyetlerinde, iletişim devamlılık gerektiren bir süreçtir.

1. Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcilerinin Tanıtım ve Pazarlama Faaliyetleri

Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcileri tanıtım ve pazarlamasını yaptıkları ilacın müşterisi doktor, diş hekimi ya da eczacıdır, fakat ilacı kullanan hastadır. Hasta ilacı seçme yetkinliğine sahip olmadığından; kararı veren doktor, diş hekimi ya

da eczacıdır. Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcileri tanıtım ve pazarlama faaliyetlerini yerine getirirken Sağlık Bakanlığı'nın belirttiği yasal kurallara uymak zorundadırlar.

3 Temmuz 2015 tarihli Beşerî Tıbbi Ürünlerin Tanıtım Faaliyetleri Hakkında Yönetmelikte ürün temsilcisi "Üniversitelerin, ürün tanıtım temsilcisi yetiştiren bölümlerinden mezun olanlara diplomalarını ibraz etmeleri hâlinde veya en az yüksekokul mezunu olup Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından yapılan veya yaptırılan sınavı başarı ile geçene Kurum tarafından yeterlilik belgesi düzenlenen kişilerdir" olarak tanımlanmaktadır. İlgili yönetmelikte tıbbi ürün tanıtım temsilcisinin doktor, diş hekimi ve eczacı haricindeki sağlık meslek mensuplarına herhangi bir ürün ve benzerinin tanıtımını yapamayacağı ve tanıtım malzemesi veremeyeceği belirtilmektedir. Tanıtım sırasında sağlık mesleği mensuplarının ilaçlar veya tıbbi ürünler hakkındaki şikâyet, öneri ve yan etkilere/komplikasyonlara ilişkin geri bildirimleri kendi firmalarındaki ilgili bilim servislerine veya ilgililere iletmek zorundadırlar (3).

3 Temmuz 2015 tarihli Beşerî Tıbbi Ürünlerin Tanıtım Faaliyetleri Hakkında Yönetmelik tıbbi ürün tanıtım temsilcilerinin mesai saatleri içinde kamu hizmeti veren sağlık kuruluşlarında tanıtım yapabilmeleri için birtakım kuralları da beraberinde getirmiştir. Bu kurallar; 'Sağlık kuruluşlarında yetkili amir tarafından belirlenen saatler içinde ve sağlık hizmetlerini aksatmayacak şekilde tıbbi ürün tanıtım temsilcileri tanıtım ve pazarlama faaliyetlerini gerçekleştirirler ve de Tıbbi Ürün tanıtım temsilcileri tanıtım faaliyetlerini gerçekleştirirken ilgili sağlık kuruluşu giriş ücreti isteyemez' şeklindedir (3).

Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcileri diğer sektörlerde çalışan insanlardan çok daha fazla dikkatli ve sorumluluk sahibi olmaları gerekir. Çalıştıkları

ilacın farmakolojisini çok iyi bilmeli ve karşısındaki kişiye doğru bir şekilde aktarabilmelidirler. Bu bağlamda çalıştıkları firmaların medikal bilim servis uzmanlarına çok büyük iş düşmektedir (3). Firmalar ürün tanıtım temsilcilerine medikal eğitimi, sağlık otoriterlerinin uygun bulunduğu şekilde bilimsel ve objektif olarak vermelidirler. Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcileri ilacın etken maddesini, endikasyonunu, kontrendikasyonunu, yan etkilerini, saklama koşullarını, ticari takdim şeklini, ticari adını, fiyatını, uygulama yöntemini çok iyi bilmelidirler. Bunun yanında yalnızca çalıştıkları ilacı değil, çalıştıkları alanla ilgili diğer ilaçlar hakkında da bilgi sahibi olmalıdırlar (7).

İlaç tanıtım ve pazarlama faaliyetleri yerine getirilirken hukuksal çizgi de çok önemlidir. Otoriterlerin koyduğu yasa ve ilkelere bağlı kalırken, etik değerler doğrultusunda vicdanlarına göre de hareket etmelidirler.

Firmalar eczacılara yönelik tanıtım ve pazarlama faaliyetlerini yürütürken uygun şekilde rekabet koşullarını yerine getirmelidirler. Aşırı rekabetten kaynaklı eczanelere ihtiyaçtan fazla satılan ilaçlar yine hızlı bir tüketim oluşmasına da neden olabilmektedir. Fazla depolanan bu ilaçlar Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcilerine yönelik satış baskısı oluşturabilir. Bu nedenden dolayı uygun şekilde ilaç satımı ve rekabet koşulları oluşturulmalıdır.

2. İlaç Tanıtım ve Pazarlamada Kullanılan Yöntem ve Malzemeler

Günümüzde Türkiye’de dahil birçok ülkede ilaç ve beşerî tıbbi ürünlerin satış ve tanıtım faaliyetlerinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Tıbbi ürün tanıtım temsilcilerini kullanmak en etkin yöntemlerden birisi olmakla birlikte; internet tabanlı veya mobil iletişim tabanlı birçok yöntemlerden de yararlanılmaktadır. Bunların yanında kongre veya sempozyum gibi bilimsel toplantılara katılmak, ya da bu toplantılara bilimsel anlamda desteklemek faaliyetleri arasındadır (2).

Beşerî Tıbbi Ürünlerin Tanıtımı Hakkında Yönetmelik gereği ilaç firmalarının doğrudan halka tanıtım yapmaları, medya ve iletişim araçlarını kullanmaları ve reklam vermeleri yasaklanmıştır. Bu nedenden dolayı tanıtımda kullandıkları araç ve gereçler çok büyük önem taşımaktadır. Tanıtımda kullanılan araç ve gereçler reklam, diğer rakip firmaları veya tıbbi ürünleri kötüleyen, rencide edecek açıklamalar, simgeler vb. içermemelidir (2). Özellikle sahada vakit geçiren Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcileri tanıtım ve pazarlama faaliyetlerini yerine getirirken ilaç tanıtım broşür ve diğer yardımcı malzemelerden yararlanırlar. Bu malzemeler yönetmeliğin belirlediği çerçeveler içinde hazırlanır. Doktorlara iletilen bu sembolik hatırlatıcı malzemelerin değeri asgari ücretin %2,5’ini geçmeyecek şekildedir (3). Özellikle doktorlara ve eczacılara ilacın tanıtımının yapıldığı broşürler bilimsel verilere göre hazırlanması ve etik değerlere göre oluşturulması gerekir. Her broşür yılına göre numaralandırılır ve de ilaç pazarda olduğu sürece saklanır.

İlaç firmaları tarafından oluşturulan tanıtım malzemeleri amacı dışında kullanılmamalıdırlar. İstenmeyen durumların oluşmasına engel olmak için broşür ve malzemelerin sağlık kuruluşlarına rastgele bırakılmamasına ve hastaların eline geçmemesine çok dikkat edilmelidir. İlaç firmaları ve çalışanları belirtilen mevzuata uygun hareket etmelidirler.

Tıbbi Ürün Tanıtım Temsilcileri tanıtım ve pazarlama faaliyetleri yerine getirirken çalıştıkları firmaların medikal bilim servis uzmanlarının belirlediği broşür, literatür, kitap veya her türlü tanıtım malzemesi dışında, kendi belirledikleri tanıtım malzemelerini asla çalışmamalıdırlar.

İlaç firmaları bilimsel tıp dernekleri, tıp otoriterlerinin veya kuruluşlarının düzenlediği bilimsel kongrelere katılmaktadırlar. İlaç firmaları bilimsel destek sağlarken toplantıya katılım

sağlayacak kişiye değil, bizzat organizasyona bu desteği sağlarlar (3). Bu kongrelerde toplantı ya da çalışmalar yaparak tanıtımını yaptıkları ilacın daha fazla doktora ulaşma fırsatını yakalarlar. Bu kongrelerde stantlar açarak direkt görsel çalışmalar da bulunurlar. İlaç firmaları tanıtım ve pazarlama faaliyetlerini yaparken kullandıkları yöntem, malzeme ve çalışmalar bakanlığın sıkı denetim ve kurallarına tabidir. Bütün tanıtım faaliyetleri mevzuatlar ile belirlenmiştir.

3. Akılcı İlaç Kullanımı (AİK) Pazarlama Faaliyetleri

Akılcı ilaç kullanımı, hastaya uygun olan ilacın, uygun olan sürede ve dozda verilerek en düşük fiyatta sunulmasıdır (10). Akılcı ilaç kullanımında ilacın tedaviye uygun, etkili, güvenli ve maliyetinin düşük olması gerekir.

Akılcı ilaç kullanımında ilaç firmaları, Tıbbi rn Tanıtım Temsilcileri, doktorlar, eczacılar, sağlık otoriterleri, meslek kuruluşları, geri ödeme kuruluşları, hemşireler ve de hastalar olmak üzere herkesin sorumluluğu vardır.

Akılcı ilaç kullanımının uygulanması sektörün, kalitesinin artmasına, verimli ve adil bir hale gelmesini sağlayacaktır (10). Tıbbi rn Tanıtım Temsilcileri gereksiz ve özellikle pahalı ilaçların reçete edilmesine yönelik tanıtım ve pazarlama faaliyetleri yrtmemelidirler. Hekimlerin tedavi protokollerine uygun hareket ederek tanıtım ve pazarlama faaliyetlerini yerine getirmelidirler.

4. Akılcı Olmayan İlaç Tanıtım ve Pazarlama Faaliyetleri

İlaç tanıtım ve pazarlama faaliyetleri yapılırken, ilaç firmaları ve Tıbbi rn Tanıtım Temsilcileri Akılcı Olmayan İlaç Kullanımına (AOİK) yönelik faaliyetlerin oluşmaması için dikkatli olmalıdırlar. AOİK yönelik yapılan her türlü faaliyet tıbbi ürün tanıtım elemanlarının doktor karşısında imajını zedeler. Aynı zamanda ilaç firmalarının sağlık otoriterleri karşısında zor durumda kalmasına

neden olur. Akılcı Olmayan İlaç Kullanımı gereksiz ve uygun olmayan ilaç tüketime arttırarak, ilaç etkileşimlerine, advers (yan) etkilere ve devlet btcesine olumsuz yk bindirerek tedavi maliyetlerinin de daha fazla olmasına yol açabilmektedir (10).

Doktorlar tıbbi ürün tanıtım elemanlarının ziyaretlerinden azımsanmayacak lde etkilenmektedirler. Tıbbi rn Tanıtım Temsilcileri tanıtım ve pazarlama faaliyetlerini yerine getirirken doktorlarla sık sık iletişim içindedirler. Bu durum uygun olmayan ilaç tüketimini arttırabilmekte ve gereğinden fazla ilaç reetelendirilmesine neden olabilmektedir. Bununla beraber Akılcı Olmayan İlaç tüketime ile ilgili en etkili örnek, gereksiz antibiyotik kullanımını sonucunda oluşan bakteriyel dirençtir.

5. Farmakovijilans alışmalarında Pazarlama Faaliyetleri

Farmakovijilans alışmaları beşerf tıbbi ürünlerin oluşabilecek advers etkilerinin takip edilebilmesi ve tıbbi ürünlerin ortaya çıkaracağı zararların nlenbilmesi amacı ile ruhsat sahibi firmalara yönelik görev ve sorumlulukları içermektedir (13). İlaçların yararlı etkilerinin yanında, istenmeyen etkileri de olabilir. Bu istenmeyen etkiler hastada beklenmedik sonuçlar meydana getirebilir. İlaç firmaları yeni geliştirdikleri moleküllerin pazarlama faaliyetlerine geçmeden önce büyük bir titizlik ile laboratuvar ve canlı denek çalışmalarını yürütürler. Her ne kadar bir ilaç piyasaya çıkmadan önce, genel olabilecek istenmeyen zararlı etkiler tespit edilsede; piyasaya çıktıktan sonra, kullanıcıların artmasıyla beraber yeni advers etkiler gözlenebilmektedir. Hiçbir ilaç yüzde yüz güvenli değildir. Binlerce, milyonlarca hastada kullanılan bir ilaç, başka bir hasta tarafından kullanıldığında, advers etki görülebilmektedir. İlaç firmaları ilaçların advers etkilerinden dolayı pazarlama faaliyetlerini yerine getirirken mutlaka

farmakovijilans çalışmalarına da önem vermek zorundadırlar.

Farmakovijilans alışmaları pazarlama faaliyetlerinde en titiz yapılması gereken çalışma faaliyetidir ve çok geniş bir kavramdır. Burada iyi üretim teknikleri, kaliteli eğitim, ilaç uygulama hatalarının önlenmesi, uygun doz ilaç kullanımı, etkinlik verilerinin değerlendirilmesi, aşırı doz, zehirlenme durumu, endikasyon dışı kullanım, yarattığı şiddetli advers etki sonucu ölüm vakaları, ilaç-ilaç etkileşimleri, ilaç-besin etkileşimleri gibi tüm faaliyetleri içine alan bilimsel çalışmaların bütünüdür. Farmakovijilans alışmaları ilaç güvenliğini de beraberinde getirmektedir. İlaç pazarında yer alan hiçbir ilaç %100 güvenli olarak kabul edilmemekle; ancak faydası zararından daha fazla olan ilaç olarak değerlendirilmektedir.

Farmakovijilans çalışmalarının diğer bir amacı ise, advers etkilerin ve ilaç etkileşimlerinin önceden tahmin edilebilir hale getirilmesidir. Bu sayede risk faktörlerinin tespit edilerek hastalarında ilaç kullanımında aktif rol alması sağlanmalıdır. Firmalar tüm çalışanlarını farmakovijilans eğitimini vermek, advers etkilerin sorumlulukları hakkında tüm personelini bilgilendirmek zorundadır (13).

Ruhsat sahibi firma, sağlık mesleği mensubu tarafından bildirilen bir advers etkiyi, mutlaka Türkiye Farmakovijilans Merkezi'ne (TÜFAM) bildirmek ile yükümlüdür (13). İlaç firmaları piyasada olan ilaçların güvenli olduğunu garanti etmek zorundadırlar. İlaç firmaları piyasada hastalar tarafından kullanılan ilacın güvenliliğini kendi ilerinde kurdukları farmakovijilans sistemi ile sağlarlar. İlaç firmaları farmakovijilans faaliyetlerini bilimsel şekilde yapmak zorundadırlar. İlaç firmaları bilimsel yürüttükleri farmakovijilans çalışmalarını doktor ve eczacıdan oluşan departmanlarda yürütürler.

2. SONUÇ

Tüketimi artan ilacın doğru ve etik bir şekilde pazara sunulması gerekmektedir. Bu faaliyetlerin yasal yönetmelikler ile belirlenmesi sayesinde, ilaç tanıtım faaliyetlerinin daha düzenli ve daha bilimsel hale gelmesi sağlanmıştır. Sağlık Bakanlığı ilaçların gereksiz ve yanlış şekilde tüketilmesini azaltmak için, akılcı ilaç kullanımına yönelik çalışmaları ile ilaç tüketimindeki savurganlığın önüne geçilmektedir. Bu sayede yapılan bu düzenlemeler ile insanların ilaçlara kontrollü bir şekilde ulaşması sağlanmıştır.

İlaç tanıtım ve pazarlama da müşteri ilacı kullanan değil, ilacı reetelendirendir. Bu yüzden ilaç tanıtımında aslında direkt olarak pazarlama yoktur, kanıta dayalı bilimsel verileri olan bir bilginin aktarımı vardır. Yanlış şekilde tanıtılması toplumun sağlığı yönünden ve ekonomik olarak çok büyük zararlara neden olabilmektedir. Bu yüzden mutlaka otoriterlerin belirlediği kurallar çerçevesinde bu tanıtım ve pazarlama faaliyetleri yerine getirilmelidir.

Türk İlaç Sanayinin gelişebilmesi ve ilerleyebilmesi için, her ne kadar devletin desteği vurgulansa da, aynı zamanda bu sektörde yer alan herkesin etik ilkeler doğrultusunda hareket ederek; alacakları tüm kararlarda, kamu yararını gözetmeleri gerekir. İnsanlar kullanmadıkları ilacı, evde ihtiyacım olabilir düşüncesi içerisinde, olmamalıdırlar. Gereksiz yapılacak her türlü harcama ve ilaç tüketimi, ülkemizdeki herkes tarafından engellenmeli, akılcı ilaç kullanımına destek vermelidirler. İnsan sağlığını yalnızca yasa ve kurallar korumaz, aynı zamanda etik değerler, ilkeler ve vicdanlar korur. Unutmayalım ki hasta bir insan için en büyük çaresizlik ilaca ulaşmamaktır.

KAYNAKLAR

1. AİFD. (2012): Türkiye İlaç Sektörü: Vizyon 2023. Araştırmacı İlaç Firmaları Derneği,

Ankara. <http://www.aifd.org.tr/wp-content/uploads/2016/07/AIFD-VIZYON-2023-RAPORU.pdf>. Erişim tarihi: 10/10/2016.

2. AİFD. (2015): Sağlık Meslek Mensuplarıyla ve Örgütleriyle İlişkiler, Hasta Örgütleriyle İletişim, Dijital Platformların Kullanımı ve Beşerî Tıbbi Ürünlerin Hekim, Diş Hekimi, Eczacılar Tanıtımı Hakkında Araştırmacı İlaç Firmaları Derneği (AİFD) İyi Tanıtım ve İyi İletişim İlkeleri (5.2. Metin). Ankara, 2015. Araştırmacı İlaç Firmaları Derneği. www.ifpma.org/wp.../01/AIFD-iyi-tanitimveiyi-iletisim-ilkeleri-5-2-20150220.pdf. Erişim tarihi: 10/10/2015.

3. Beşerî Tıbbi Ürünlerin Tanıtım Faaliyetleri Hakkında Yönetmelik. (2015): Resmi Gazete, 3 Temmuz 2015; Sayı: 29505.

4. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı. (2015): İlaç Sektörü. Ankara: Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı.

5. Civaner M. (2006): Türkiye’de İlaç Şirketlerinin Kullandıkları Pazarlama Yöntemleri Ve Hekimlerin Bu Konudaki Değerlendirmelerinin Etik Açısından Sorgulanması. (Yayımlanmamış doktora tezi). Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

6. Eren, M. (2012): “Sağlık Biraz Da Kirlenmiş Bir Alan” Türkiye Sağlık Sektörü İçerisinde Mümessiller. Çalışma ve Toplum, 2012/1, 187,217.

7. Gümüş, S. (2014): Sağlıkta İlaç Pazarlaması. İstanbul: Hiperlink Yayınları.

8. İEİS. (2016): Türkiye İlaç Sektörü 2015. İlaç Endüstrisi İşverenler Sendikası, Ankara. http://www.ieis.org.tr/ieis/assets/media/kls/TR_lac_sektoru_2015.pdf. Erişim tarihi: 10/10/2016.

9. Nalbantoğlu, N. (2009): Türkiye’de İlaç Sanayi. İstanbul: Ticaret Odası Yayınları.

10. Sosyal Güvenlik Kurumu. (2013): Topluma Yönelik Akılcı İlaç Kullanımı. T.C. Sosyal

Güvenlik Kurumu Başkanlığı. SGK Yayın No: 93.

11. TEPAV. (2015): İlaç AR-GE Ekosistemi Raporu. Türkiye Ekonomi Politikaları Vakfı (TEPAV).

http://www.tepav.org.tr/upload/files/14302283644.Ilac_ARGE_Ekosistemi_Raporu.pdf. Erişim tarihi: 10/10/2016.

12. Turan, N. (2007): Kuruluşundan Günümüze Türkiye İlaç Endüstrisi. İstanbul: Scala Yayınları.

13. Türkiye Farmakovijilans Merkezi. (2005): Beşerî Tıbbi Ürün Ruhsatı Sahipleri İçin Farmakovijilans Kılavuzu. Ankara: Türkiye Farmakovijilans Merkezi. <http://www.farmakovijilansderneği.org/UserFiles/File/Farmako.pdf>. Erişim tarihi: 10/10/2016.

14. Yüksel, C. A. (2000): İlaç Pazarlaması, Reçetesiz İlaçlara Karşı Türk Eczacılarının Kanaat ve Tutumlarını Belirlemeye Yönelik Pilot Araştırma. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.



Terapötik Newcastle Disease Virus (NDV)'un İmmun Sistem ve İnsan Tümör Hücreleri ile Etkileşimi: Onkolitik Viroterapi

Bahattin Taylan KOÇ

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Işıklı-AYDIN

Geliş Tarihi / Received
14.10.2016

Kabul Tarihi / Accepted
28.12.2016

Yayın Tarihi / Published
31.12.2016

Özet: Kanser gerek mortalite gerekse ortaya çıkma oranı açısından hiç şüphesiz çağımızın en tehlikeli hastalığıdır. Gelişen yeni teknolojiler ile erken tanı, yeni nesil kemoterapötikler ve ileri düzey radyoterapiler geliştirilmiş olsa da kanser hastalığına tam bir çözüm olamamışlardır. Bu durum biyoteknolojinin de gelişmesiyle birlikte kanserin tedavi ve korunma yöntemlerini laboratuvar bazlı geliştirmeye yönlendirmiştir. Laboratuvar bazlı bu tekniklerden en önemlisi virüsler aracılığıyla yapılan kanser tedavisi yani *Onkolitik Viroterapi*'dir. Kanser hücrelerine yüksek affinite gösteren doğadaki bu virüsler, laboratuvar şartlarında geliştirilerek daha etkin olması sağlanmıştır. Ancak insanlardaki immün sistemin oldukça karmaşık ve güçlü bir işleyişi olması virüslerin kanser hücresine tam olarak etki etmesini engellemektedir. Bu durum insan orijinli olmayan virüslere yönelmiştir ki bunlardan ön plana çıkan ise *Newcastle Disease Virus* (NDV) olmuştur. Özellikle insan orijinli olmayan hayvan virüslerinin insanlar üzerinde yan etki göstermemesi ya da çok düşük bir etki göstermesi onları ayrıca avantajlı hale getirmektedir. NDV kanatlıların oldukça patojen bir hastalığı olmasına karşın insanlarda antitümöral etkisi sayesinde birçok başarılı terapi sonucu elde edilmiştir. Bu derlemede NDV'un kanser hücreleri için terapötik etkisi ve immün sistemle ilişkisi incelenecek, ayrıca konu hakkında yapılan laboratuvar ve klinik çalışmalara değinilecektir.

Anahtar Kelimeler: Newcastle Disease Virus, Onkolitik Viroterapi, İmmun Sistem, Kanser

Interaction of Therapeutic Newcastle Disease Virus (NDV) With Immune System and Human Cancer Cell: Oncolytic Virotherapy

Abstract: Cancer is undoubtedly the most dangerous diseases of present age in terms of both rates of its mortality and emergence. Although early diagnosis, a new generation chemotherapeutic and advanced radiotherapy have emerged through developing new technologies, a certain solution could not be discovered for the cancer. In this case has directed to develop laboratory-based methods of treatment and prevention within advances in biotechnology. The most important one of these laboratory-based techniques is cancer treatment via oncolytic viruses, in other words *Oncolytic Virotherapy*. These viruses in the environment showing a high affinity to cancer cells have been provided to be more effective by developed in the laboratory. However, in humans, possessing quite complex and powerful operation of the immune system has inhibited to completely affect to the virus. This circumstance has directed to viruses not originate from human, of which has been Newcastle Disease Virus (NDV). Especially non-human animal viruses have not led to adverse effects or let a much lower impact on humans have made them advantageous. Although NDV is highly pathogenic disease of avian species, several successful therapy results have been obtained by its antitumor effects in humans. This review will examine the relationship with the immune system and therapeutic effects of NDV on cancer cells, also laboratory and clinical studies about these issues will be discussed.

Keywords: Newcastle Disease Virus, Oncolytic Virotherapy, Immune System, Cancer

Sorumlu yazar: B. Taylan KOÇ

Adres: Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji ABD Aydın.

E-mail: btcoc@adu.edu.tr

1. GİRİŞ

Newcastle Disease Virus (NDV), *Paramyxoviridae* familyası içinde *Avulavirus* genusunda yer almaktadır. Dokuz serogruba sahip olan paramyxoviruslarda, serogrup bir (PMV-1) kanatlı hastalıkları bakımından en önemli viral ajanları içermektedir. NDV, bu serogrupta yer almaktadır. Virusun ismi, İngiltere'de Newcastle şehrine yakın olan Tyne kasabasında hastalığın ilk olarak kanatlı hayvanlar arasında görülmesi ve kısa zamanda tüm şehirde salgınlar halinde görülmesinden dolayı NDV olarak nitelendirilmiştir (1). Virus negatif polariteli, tek iplikçikli ve segmentsiz RNA genomu içermekte olup, zarflı bir virustur. Helikal simetrik nükleokapside sahip olan etkenin filtreleri geçebilme özelliği bulunmaktadır. Virus; hücre partikülü (virion), füzyon (F) olarak adlandırılan zarf glikoproteininden ve glikolize olmamış membran veya matris (M) proteinlerinden oluşmaktadır. Füzyon proteini moleküler ağırlığı (M.A) 66.000 olan bir prekürsör olarak sentez edilmiştir. Bununla beraber disülfid bağlarla bir arada tutulan F1 (M.A. 56.000) ve F2 (M.A. 10.000) komponentleri de bulunmaktadır. Füzyon proteini virusun hücreye penetrasyonu aşamasında hücre duvarını lize eder. Hemaglutinin (HA) ve Nöroaminidaz (NA) proteinlerine sahiptir ve bu proteinler multifonksiyoneldir. Virus 56 °C 'de ve UV ışınları altında hızlı bir şekilde inaktive olur (2). Virus için önemli olan altı tane polipeptid kodlanması, 6 farklı gen bölgesi tarafından yapılmaktadır.

1. Geniş (Large) protein (L,200 kDa)
2. Hemaglutinin - Nöroaminidaz protein (H-N, 74 kDa)
3. Füzyon protein (F, 67 kDa)
4. Matrix protein (M, 40 kDa)
5. Fosfoprotein (P, 53 kDa)
6. Nükleoprotein (NP, 55 kDa)

NDV ile hücre enfeksiyonu iki basamak halinde ele alınabilir. İlk basamak virusun H ve N molekülleri ile

hücreye bağlanmasını ve translasyonunu içerir. Bu olay F protein aktivasyonu ile devam eder. HN ve F moleküllerinin hücre yüzeyindeki bu uyumlu hareketi konakçı hücre membranının kolay geçilmesini sağlar. Bu membran-füzyon olayı viral genomun hücre sitoplazmasına girmesine izin verir. Sitoplazmada negatif polariteli RNA genomu mRNA içinde transkribe edilir ve viral protein translasyonu gerçekleşir. Buraya kadar birinci basamak olarak nitelendirilmektedir. Buradan sonraki kısımlar ise ikinci basamak olarak değerlendirilir. NP, P, L proteinleri nükleokapsid oluşumu için birleşmeleri gerekmektedir. M proteini ve HN-F molekülü translasyonel modifikasyondan sonra membrana taşınırlar ki böylece virus partiküllerinin toplanması buna müteakip tomurcuklanması söz konusu olur (3).

Günümüzde NDV halen kanatlı hayvanlar arasında görülen ve özellikle sektörde ciddi verim kayıplarına neden olabilen bir virustur. Ancak bu olumsuz özelliği yanı sıra bilim dünyasında diğer bir özelliği ile olumlu gelişmelere ön ayak olmuştur. *Onkolitik viroterapi* denilen virusla insanlarda kanser tedavisinde en çok araştırılan ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından alternatif terapiler içinde değerlendirilen bir virustur (4).

Onkolitik viroterapi, kanser hücrelerinde bölünme yoğunluğuna bağlı olarak virusların bu hücrelerdeki replikasyon artışı ve sonunda tümörün lize ya da regrese edilmesi işlemidir. *Onkolitik viroterapi* günümüzde birçok virus türü ile denenmekte ve dikkat çekici birçok sonuç alınmaktadır (4, 5, 6). Bunun en önemlisi Ekim 2015 FDA tarafından onay verilen Amgen firması tarafından üretilen *Talimogene laherparepvec* (T-VEC)'dir. T-VEC, Herpes Simpleks Virus'tan köken alan ancak birçok biyoteknolojik metot ile hücre üzerindeki olumsuz özelliği engellenmiş ve sadece tümör hücrelerini hedefleyen bir kanser aşısı haline getirilmiştir (7). FDA onayına karşın Herpes Simpleks Virusun en çok

insanlar üzerinde hastalık yapması bakımından yan etki ve mutasyon sonucu olumsuz sonuçlara neden olabilme ihtimali söz konusudur. Bu yüzden farklı virus türleri halen araştırılmaktadır. Kanatlılara özgü NDV'da bu araştırılan türlerin başını çekmektedir. Özellikle konakçı türünün farklı olması ve zoonoz olduğu daha önceki çalışmalarda belirtilmiş olsa da insanlarda basit soğuk algınlığı tarzı semptomlara neden olması, bunun yanında tümöral hücrelere yüksek affinite göstermesi onu daha çok ön plana çıkarmıştır. NDV antineoplastik özelliklerinden dolayı, farklı tedavi konseptlerinde yer almıştır.

Bunlar (3,8);

- I. Tümör Selektif Mekanizması ve Onkolitik Özellikleri
- II. Non-spesifik immün stimülasyon için kullanılması (Sitokinler ve İnterferon İndükleme)
- III. Sitotoksik T Lenfosit (CTL)'e bağlı immün sistemin indüklenmesi

I. NDV'nun Tümör Selektif Mekanizması ve Onkolitik Özellikleri

NDV'nun normal hücrelerde yaptığı enfeksiyonlar genellikle İnterlökin -12 (IL - 12) ile engellenmeye çalışılır (9, 10). Fakat tümör hücreleri üzerinde yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda ise, enfeksiyon oluşumundan 50 saat sonra bile viral partikül üretimi devam ettiği saptanmıştır (9-14).

NDV tümör selektivitesini arttıran hücre immün sistemi ve immün sistem komponentleridir. Özellikle non-tümörijenik olan insan periferal mononükleer kan hücrelerinde Protein Kinaz (PKR), MxA Dynamin-Like GTPase (antiviral etkili) gibi molekülleri stimüle edebilir (10). Fakat tümörijenik hücrelerde immün sistem bozulmasına bağlı olarak bu antiviral yanıtlar büyük oranda gelişmemektedir. Böylece viral proteinlerin tümör hücrelerinde yüksek replikasyon siklusu devam etmektedir (10). Antineoplastik tedavi için NDV'nun

litik ve non-litik olmak üzere iki suşu da kullanılabilir. Hem litik hem de non-litik suş, insan neoplastik hücrelerinde, normal hücrelere göre daha yoğun şekilde replike olurlar. Bu iki suş da potansiyel anti-kanser ajanı olarak incelenmiştir. Fakat bu iki suşun onkolitik özelliklerinde temel bir fark göze çarpmıştır; enfektif litik suşlar insan neoplastik hücrelerinde projeni virus partikülleri oluşturabilirken, non-litik suşlar oluşturamamaktadır (11). Bunun nedeni non-litik virusların sahip olduğu F proteininin inaktif projeni virus partikülleri meydana getirmesidir. Litik NDV suşları ise enfektif projeni virus partikülü meydana getirir ve viral enfeksiyonun ilk etabından sonra multisiklik replikasyon aracılığıyla tümör dokularında virus enfeksiyonunu yayılmasını indükler (12). Onkolitik NDV suşları, insan endodermal, ektodermal, mezodermal hücre kültürlerine sitotoksiktir ve bu hücre kültürlerindeki ölüm hem intrinsik hem de ekstrinsik faktörlerin NDV ile uyarılması sonucu meydana gelir (13). NDV enfeksiyonu ile mitokondrial membran potansiyeli düşmesi sonucu mitokondrial protein olan sitokrom C serbest kalır. Bu duruma ek olarak kaspaz-3 ve kaspaz-9 sisteminde erken aktivasyon sağlanır ve apoptoza bağlı olmadan tümör hücrelerinde sitotoksik etki görülür (14).

Daha baskın olan apoptoz yolunda ise TRAIL (tümör nekrozis faktöre bağlı ligand yolu ile apoptoz) sisteminde indüklenen tümör hücresi kaspaz-8 ve pro-kaspaz-3 ü uyararak apoptoza götürmektedir. Bu durum ise NDV'nun hücrelerde meydana getirdiği apoptoza göre geç bir olaydır (14). Yapılan bir çalışmada da, p53 'ün kontrol edilebilir ekspresyonu (rekombinasyon ile sağlanan) insan glioma hücre kültüründe sağlanmış ve p53 ekspresesi esnasında ya da p53 ekspresyonu biten hücreler arasında NDV sensitivitesinde herhangi bir farklılık meydana gelmediği tespit edilmiştir (13).

Bu durum göstermektedir ki NDV p53'e bağlı olmadan apoptoz mekanizmasını indükleyebilmektedir (15-17). Onkolitik NDV suşu olan *MTH-68/H* (Newcastle disease virusun canlı attenüe aşı suşularında birisidir) test edilen tüm NDV suşları içinde en güçlü IFN - α yanıtını sağlayan suştur. Kolon karsinomalı farelere uygulanan locoregional *MTH-68/H* tümör regresyonu sağlamış ve yaşam süresini uzatmıştır (18).

II.Non-spesifik immün stimülasyon için kullanılması (Sitokinler ve İnterferon İndükleme)

NDV ile enfeksiyon meydana gelen normal hücrelerde, konakçı immün sistemi doğal bağışıklığı hızlı bir şekilde Tip I interferon üreterek devreye sokar (IFN - α/β). Bu interferon sistemi ile virus replikasyonu inhibe edilir. Antiviral yanıt mekanizmasını uyaran ise, Toll-like reseptörleri (TLRs) ve RIG-I-like reseptörleri (RLRs) tarafından tanınan ve viral bir ürün olan çift iplikçik RNA (dsRNA)'dır. TLRs ailesi, hücre yüzey membranında ve endozomlarda ekspresyon meydana getiren 10'dan fazla üyeye sahiptir. RLRs ise sitoplazmik RNA helikazların ailesidir ve RIG-I (Retinoic acid-inducible gene 1) ve MDA-5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5)'i kapsamaktadır (19,20).

Sitoplazmada NDV replikasyonu sırasında duyarlı hale gelen dsRNA molekülleri hücrede TLR-3 ve RIG-I/MDA-5 reseptörleri tarafından tanınmaktadır. RIG-I ve MDA yetersiz ifade olduğu farelerdeki çalışmalarda (20-23), RNA virusu ile meydana gelen enfeksiyondan sonra bu farelerden izole edilen konvansiyonel dendritik hücreler (cDCs), makrofajlar ve fibroblastlar, mekanizması bozulan Tip I IFN indükler fakat normal IFN üretimi plazmosit dendritik hücrelerde (pDCs) halen gözlenmektedir. DCs bu sayede daha yüksek miktarlarda IFN- α üretebilmektedir. Bu yüzden TLR sistem, antiviral yanıtta cDCs, makrofajların ve

fibroblastların indüklenmesinden çok pDCs'nin indüklemesine ihtiyaç duymaktadır, RLRs ise NDV'ü algılamada kritik bir reseptördür (24). Virus enfeksiyonu sonucu ölmüş hücrelerin apoptotik cisimciklerindeki dsRNA'lar, TLR-3 tarafından yüksek ekspresyon kapasitesine sahip olan CD8 α dendritik hücreleri tarafından tanınmaktadır (25). Bu olay, virus enfekte hücreler için T hücrelerinin çapraz etkileşimini indükler. DCs (hem cDCs hem de pDCs tarafından)'in ve monositlerin aktivasyonu, periferel kandaki mononükleer hücreler tarafından IFN- α 'nın yüksek yoğunlukta salınmasına neden olmaktadır (12).

NDV'una karşı IFN- α salgılanmasını antiviral bazlı bir indüklemektedir. Bu özellikten yola çıkarak NDV enfeksiyonlarına karşı aşılama da en önemli adjuvant olarak IFN- α önerilmektedir (26). Eğer dışarıdan adjuvant konulmazsa, Tip I IFN tek başına adjuvant olarak kullanıldığında çoğu canlı virusa karşı güçlü bir immün yanıt oluşturduğu saptanmıştır. IFN- α doğal öldürücü hücrelerde (NK), TRAIL faktörünü de indüklediği gözlemlenmiştir. İlginç olarak, burada IFN sinyal yolağı (pathway) ve TRAIL arasında bir bağlantı olduğu düşünölmektedir. Bu durum şöyle açıklanmıştır; NDV TRAIL faktörünü monositlerde ekspresyonunu regüle eder ve böylece tümörisidal aktiviteleri ile bir bağlantı oluşturmaktadır (22).

NDV DCs için tehlike sinyallerini indüler ve stimüle eder. Buna bağlı olarak, DCs antijen sunan immün stimulatör fonksiyonunu geliştirilmiş olur. Bu durum tek bir mekanizma olarak açıklanmıştır. NDV enfeksiyonu sonucu nekroze olan hücrelerin, hücre komponentleri salınır ve bu da diğer hücrelerde tehlike olarak algılanmaktadır. Bu model eğer kendi konakçı hücrelerinde regüle olmuş tehlike sinyalleri mevcutsa non-litik viruslarla beraber tehlike modeli ile ilgili olabilir (27). Bu nedenle, NDV enfeksiyon yerinde immunolojik tehlike sinyallerini indüklediğinden dolayı aşı vektörü kullanılma

potansiyelini arttırmıştır. Aksi ise, memeli immun sistemine adapte olan diğer viruslar viral olarak immunité inhibitörlerini (TAP inhibitörleri, sitokin tuzağı, miRNAlar ve viral proteinler gibi) kodlayabilmektedir; böylece Tip I IFN indüksiyon sistemi antagonize edilebilmektedir (28).

IFN- α/β , CTL (sitotoksik T lenfosit) lerin jenerasyonunda da oldukça önemli bir rolü bulunmaktadır. CTL aktivitesinin jenerasyonu Esb-NDV (Embrionic stem B cells-Newcastle Disease)'nin stimülatör hücre olarak bulunduğu karışık lenfosit tümörü hücre kültürü (MLTC) kullanılarak, Tip I IFN antisera ile spesifik olarak bloke olabilmektedir. Benzer etki CTL'nin in vivo denemesinde de görülmüştür. IFN- α/β sadece CTL aktivitesini arttırmaz fakat CTL aktivasyonu içinde esansiyellik teşkil etmektedir (29). Bütün bu maddelere bakıldığında NDV çok güçlü bir immunstimülatör olduğunu göstermektedir. Bu sebepten, antitumoral immun yanıtın gelişmesinde güçlü bir role sahiptir (27,29).

III.Sitotoksik T Lenfosit (CTL)'e bağlı immun sistemin indüklenmesi

NDV aynı zamanda T lenfositler üzerine etkiye de sahiptir. Düşük yoğunlukta NDV ile murine Esb (Embrionic stem B cells) tümör hücrelerinin enfeksiyonu in vivo sensitizasyon ve in vitro restimülyasyondan sonra tumor spesifik CTL'in sitolitik aktivitesinde bir artışa yol açması için yeterlidir. Dalak başına düşen Esb spesifik CTL sayısı 3300'den 9100'e çıkmış olabilmektedir ki bu değer limitli dilusyon analizi tarafından test edilerek tespit edilmiştir. In split tip denemelerde, klonal seviyede, viral modifikasyonun Esb spesifik CTL'in spesifitesini değiştirmediği gösterilmiştir. Bu nedenle, tümör hücrelerinin NDV modifikasyonu TAA spesifik CTL'nin selektif güçlenmesine neden olmuştur. Bir çalışmada, NDV'nin düşük dozu tarafından tümör hücrelerinin modifikasyonu CD4+ ve CD8+ immun T hücrelerinin iş birliği sonucu

tümör spesifik T hücre yanıtın artmasına neden olmuştur. Esb-NDV-immun CD4+ yardımcı T hücreleri, antijen stimülyasyonundan sonra Esb immun hücrelere tekabül edene göre daha fazla IL-2 üretirler (29).

İnsan melanoma hücrelerinin NDV enfeksiyonu, T hücre co-stimülatör fonksiyonuna aracılık ettiği ve enerjii engellediği bildirilmiştir (30). NDV viral onkolizatları malignant melonama tedavisi için yaygın olarak kullanılmıştır. Melanoma hücreleri ve tümör infiltre CD4+ T lenfositleri, yeni rezekte edilmiş tümörlerden hazırlanmıştır. Bir yardımcı T hücresi klonu, otolog tümör hücreleri ile stimülyasyona yanıtızsızdır ve IL-2 tarafından sonradan yapılan stimülyasyona rağmen cevapsız kalmaya devam etmiştir. Melanoma hücrelerinin NDV enfeksiyonu, yardımcı T hücrelerinin proliferatif yanıtını tamamen restore etmemektedir fakat aynı zamanda enerji indüksiyonuna karşı korumaktadır (30).

NDV'nun tümör hücrelerine yerleşmesinin pozitif etkisi ile antitümör immun yanıtı güçlenmesinin diğer bir açıklaması ise, NDV'nun neden olduğu insan tümör hücresi enfeksiyonunun, HLA moleküllerinin regülyasyonuna yol açtığı gerçeği ile desteklenmektedir (31). Canlı fakat inaktive olmayan NDV ile tümör hücresi enfekte edilmesi sonucu, enfekte olan tüm hücrelerde RANTES (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted) ve interferon- γ -indüklenebilir protein-10 (IP-10)'u tetiklemektedir (31). Bu kemokinler kemotaksisi arttırmakta ve aşının uygulandığı yerde monosit ve T-hücrelerini düzenlemektedir. Canlı NDV *Ulyster* suşu ile oluşan tümör hücre enfeksiyonundan 72 saat sonra, çoğu tümör hücresi lize olmuş ya da erken veya geç apoptoz aşamasına girmiştir (31). Apoptoz genellikle non-inflamatuar hücre ölümleri ile karakterizedir. Bu tümör hücresini öldüren virus enfeksiyonunun özelliğine baktığımızda, virusa

bağlı gelişen inflamatuvar yanıt olsa da apoptozis gelişebilmektedir.

İnsanlarda NDV ile Yapılan Onkolitik Viroterapi Uygulaması ve Güvenilirliği

Aslında NDV 'nun insanlarda güvenilirliği oldukça yüksektir. Çünkü bu hastalığın çıktığı çiftliklerde çalışan çiftçiler ve işçiler vahşi tip (wild-type) NDV ile enfekte olmalarına rağmen çok minimal bir hastalık göstermişlerdir (15).

İnsan neoplazilerinin tedavileri için geliştirilmiş olan ve en çok kullanılan NDV suşları şunlardır; *MTH-68/H*, *PV-701*, *73-T* ve *Ulyster* 'dir. Bunların içinde sadece *Ulyster* non-litik diğerleri ise litiktir. NDV'nun ilk antineoplastik etki gösterdiğine dair yapılan ilk yayından bugüne kadar, NDV intratümöral, sistemik ve nasal uygulanarak test edilmiştir. NDV *73-T* suşu servikal kanserli hastalara intratumoral 2.4×10^{12} enfeksiyöz ünite dozda enjekte edilmiştir (32). Sistemik uygulama için ise, farklı virus suşundan farklı bir grup geliştirilmiştir: *PV701* (Wellstat Biologicals, Gaithersburg, MD, USA) (12), *HUJ* (Theravir, Jerusalem, Israel) (33) ve *MTH-68/H* (34).

NDV *PV701* suşu ilerlemiş solid tümörlü hastaların tedavisinde 3×10^9 enfeksiyöz partikül dozu intravenöz yolla uygulanmış ve iyi bir şekilde tolere etmiştir. Doz limiti aşımında ise dispnea, diare ve dehidrasyon şekillenmektedir. Hastalar düşük başlangıç dozlarıyla desensitize edilirse, maksimum tolerasyon dozu (MTD) 10 kat arttığı vurgulanmıştır (35). NDV'nun çok yüksek doz sistemik uygulamaları bile çok iyi bir şekilde tolere edilebilmektedir. NDV bazen çok kısa süreli trombositopeniye ve diffüz vaküler sızıntıya neden olabilmektedir. Bütün bu durumlar dışında, NDV ile tedavide sadece bir kişi hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Kanser I. fazda bulunan bu hasta için yapılan *PV701* tedavisinde akciğerlerde olan tümörlerin çok hızlı lize olduğu görülmüş ve bu lizis sonucu ölüm şekillenmiştir. Fakat bu olay bir

komplikasyon olarak gelişmiş ve diğer kanser faz I tedavilerine nazaran çok daha olumludur (35).

MTH-68/H suşu, NDV'nun Hertfortshire suşunun (*Herz'33*) tavuk embriyo hücrelerinde birkaç kez pasajlanıp ve attenüe edilmesiyle tasarlanmıştır. Çok uzun süre pasajlarda bile, çalışmalarda dikkat çekici bir şekilde genetik olarak oldukça stabil kaldığı gözlenmiştir (36). *MTH-68/H* sistemik olarak uygulandığında tümör hücrelerinde ya tamamen ya da kısmen regresyon sağlamaktadır. Ayrıca tümörden ileri gelen laboratuvar parametrelerinde de önemli değişimler meydana getirir (örneğin; tümör belirteçlerinde, karaciğer transaminazlarında ve diğer enzimlerde). Ayrıca bu suş ile glioma tedavisi üzerine yapılan çalışmaların yoğunluğu dikkat çekmektedir (36).

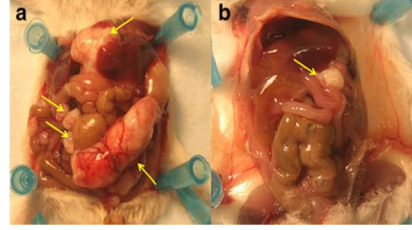
MTH-68/H ile yapılan inhalasyon tedavisinde ilginç olarak 33 hastadan 7 si sadece 2 haftalık periyotta tedaviye yanıt vermiştir (37). Yine aynı çalışmada, Macaristan'da 4.000 hasta inhalasyon terapisi ile tedavi edildiği öne sürülmektedir Bu çalışmalar yapılmaya başlamasından bu yana NDV ile insanlara uygulanan kanser tedavisinde NDV'nun genellikle insanlarda hafif bir ateş ve hafif geçici bir konjunktivit meydana getirmesinden başka herhangi bir yan etkisi açıklanmamıştır. Bununla beraber 20 senedir Amerika ve Avrupa'da insanlara yapılan binlerce uygulama sonucunda herhangi bir olumsuz etki görülmemiş, genelde tümör regresyonu şekillenmiştir. Böylece NDV yeniden 1960'lı yıllardaki gibi anti kanser ajanı olarak değerlendirilmeye başlanmıştır (38).

Bilim insanları son yıllarda yaptıkları başarılı çalışmalar sayesinde NDV'un onkolitik özelliklerini artırırken yan etkilerini azaltmayı başarmışlardır. 2014 yılında yapılan bir çalışmada lentojenik NDV'nun izolasyonu sonrası deneme hayvanlarında GL261 (Glioblastoma hücre kültürü) türü kanser hücrelerine intratümöral verilmesi sonrası kısa dönemde (14 gün) kanserde gerileme görülürken

uzu dönemde (100 gün) tamamen iyileşme görülmüştür. Bu çalışmada bir diğer dikkat çekici sonuç ise NDV'nun indüklemesi ile kanser hücrelerinde otofaji (hücresinin kendi lizozim enzimleri ile parçalanarak programlı ölümü) meydana gelmesidir (23). 2016 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise SU-DHL-4 (Human malignant lenfositoz) kanser hücresinin NDV'na sağlıklı lenfosit hücresine göre daha duyarlı olduğu ortaya konmuştur. Onkolitik viroterapi sonrası kanser hücresi yaşam oranı $83,1 \pm 10,1$ azalırken, sağlıklı hücrelerde $59,5 \pm 25,7$ azalmıştır; diğer bir deyişle kanser hücresine göre sağlıklı hücreler NDV'a daha az duyarlı olarak saptanmıştır (39). Yapılan bir diğer prelinik çalışmada CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4) blokajı sırasında daha yüksek terapötik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu etki ile daha güçlü immunité ve anti-tümöral sağlanmış, bu sayede %60 oranında yaşam süresi uzatılmıştır (40). 2014 yılında rapor edilmiş bir çalışmada ise prostat kanseri standart tedavilere rağmen kemik dokusuna metastaz yapmış bir hasta kendi rızasıyla bu tedavileri bırakmış ve NDV onkolitik viroterapi uygulanmasını kabul etmiştir. Bu hastaya sadece bir ay uygulanan NDV-DC (Dendritik hücre ile kombine NDV viroterapi) ve lokal ısı uygulaması sonucunda psa (prostat spesifik antijen) değeri 233.8 ng/ml'dan 0.8 ng/ml'ye düşmüştür. Bu terapi sayesinde oluşan T hücreleri uzun dönem koruma sağladığı saptanmış ve hastanın tamamen iyileştiği gözlemlenmiştir (41). Ayrıca İnterlökin-2 (IL-2) ile rekombine edilen NDV tümör hücre regresyonunu %22 arttırdığı da saptanmıştır (42). Günümüzde NDV ve NDV'ye bağılı kombine onkolitik viroterapi daha çok prelinik çalışmalar ile devam ettirilmektedir (43, 44, 45, 46).

Gen teknolojisinin gelişmesi ile NDV nun önemi de artmıştır. Belirtilen özellikleri dışında gen transkripsiyonuna açık olması, rekombinasyonun

saptanamaz oranı olması ve replikasyon siklusunda bir DNA fazı olmamasından dolayı NDV, attenüé aşılarda ve gen terapisi için uygun ve güvenilir vektör olmaktadır (31).



Resim.1. NDV(F3aa)-GFP ile Gastrik Karsinotmazisin Tedavisi [Song ve ark. (2010)'dan adapte edilmiştir.]. (a) Tedavi öncesi farede gastrik karsinom (b) Tedavi sonrası dikkate değer tümör regresyonu. "NDV (F3aa)-GFP: NDV nin F proteininde 3 amino asit değiştirilmesi ile daha fusojenik hale getirilmesi. Bunun yanında GFP (green fluorescent protein) yüksek ekspresyonu sağlayan genin transfekte edilmesi." (50)

Rekombinant NDV'nun Gen Terapisinde Vektör olarak kullanılması

DNA teknolojisinin gelişmesi ile non-segmenter negatif tek sarmallı RNA viruslarını rekombinant hale getirmek de mümkün olmuştur. Klonlanan cDNA (complementer DNA) sayesinde laboratuarlarda farklı rekombinant NDV (recNDV) meydana getirilmektedir (47) Örneğin; V protein ekspresyonu azaltılarak oluşturulan recNDV, tavuk embriyo hücrelerinde patojenite oluşturmamıştır (48).

Ayrıca NDV 'nun, bazı virusların farklı gen bölgelerini bünyesine katarak farklı protein ve molekül ekspresyonu sağlayabiliriz. Böylece NDV 'nun onkolitik özellikleri artırılabilir (49). NDV normalde de respirator ve alimantar kanal mukozasında enfeksiyon meydana getirir, bu şekilde recNDV'nun yabancı proteinleri eksprese etmesi ile bu semptomlarla seyreden hastalıklarda iyi bir koruma sağlar (**Resim.1**) (50).

2. SONUÇ

NDV günümüzde gen terapi, immuno terapi ve virus terapi konularında önemli bir yer tutmaktadır.

Gelecekte de NDV'nun diğer gen terapileri ve virus terapileri nazaran güvenilirlik ve çabuk replike olabilme konusundaki avantajları sayesinde kanser başta olmak üzere diğer birçok hastalığın (otoimmun, genetik hastalıkları vb.) tedavisinde de başrol üstlenmesi söz konusu olabilecektir. Ayrıca kombine tedavilerle de (radyoterapi, kemoterapi ile birlikte uygulanması) uygulanmasıyla birlikte daha başarılı çalışmalar yapılmaktadır ve bu başarı biyoteknoloji ve gen mühendisliği geliştikçe her gün daha ileri taşınacaktır.

NDV gibi tür - spesifik kullanılmayıp, genetik modifikasyon sonucu gen terapisinde vektör olarak kullanılan viruslarla araştırmalar giderek artmaktadır. Bu çalışmalar sayesinde hayvan ve bitki orijinli birçok virusları yakın gelecekte genetik değişimi sağlanarak kanser tedavi denemelerinin en önemli araçlarından biri olması kuvvetle muhtemeldir. Ayrıca gelecekte kanser çalışmalarında immun sistemi kuvvetlendiren ve/veya supresif etki meydana getirmeyen diğer tedaviler (örn. *immunoviroterapi*) ile viroterapinin genetik modifikasyonlarının kombinasyonu yeni kanser terapisi çalışma alanları olarak daha çok gündemde olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Doyle TM. (1927):** B. aertrycke infection of chicks. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*; 40: 71-75.
2. **de Leeuw O, Peeters, B. (1999):** Complete nucleotide sequence of Newcastle disease virus: evidence for the existence of a new genus within the subfamily Paramyxovirinae. *Journal of General Virology*; 80(1), 131-136.
3. **Yusoff K, Tan WS. (2001):** Newcastle disease virus: macromolecules and opportunities. *Avian Pathology*; 30: 439 - 455.
4. **Cancer Network: Lawrence, L. (2015):** "FDA Approves First Oncolytic Virus With New Melanoma Therapy".

<http://www.cancernetwork.com/melanoma/fda-approves-first-oncolytic-virus-new-melanoma-therapy>, Erişim tarihi; 10.10.2015.

5. **Huang F, Wang BR, Wu YQ, Wang FC, Zhang J, Wang YG. (2016):** Oncolytic viruses against cancer stem cells: A promising approach for gastrointestinal cancer. *World Journal of Gastroenterology*; 22(35): 7999 - 8009.
6. **Seymour LW, Fisher KD. (2016):** Oncolytic viruses: finally delivering. *British Journal of Cancer*; 114: 357-361.
7. **Dharmadhikari N, Mehnert JM, Kaufman HL. (2015):** Oncolytic Virus Immunotherapy for Melanoma. *Current Treatment Options in Oncology*; 16(10): 1-15.
8. **Sinkovics JG, Horvath JC. (2000):** Newcastle disease virus (NDV): brief history of its oncolytic strains. *Journal of Clinical Virology*; 16: 1-15.
9. **Schirmacher V, Haas C, Bonifer R, Ahlert T, Gerhards R and Ertel C. (1999):** Human tumor cell modification by virus infection: an efficient and safe way to produce cancer vaccine with pleiotropic immune stimulatory properties when using Newcastle Disease Virus. *Gene Therapy*; 6: 63 - 73..
10. **Fiola C, Peeters B, Fournier P, Arnold A, Bucur M, Schirmacher V. (2006):** Tumor selective replication of Newcastle Disease Virus: association with defects of tumor cells in antiviral defence. *International Journal of Cancer*; 119(2) : 328 - 338.
11. **Ahlert T, Schirmacher V. (1990):** Isolation of a human melanoma adapted Newcastle disease virus mutant with highly selective replication patterns. *Cancer Research*; 50(18): 5962 - 5968.
12. **Janke M, Peeters B, de Leeuw O, Moorman R, Arnold A, Fournier P, Schirmacher V. (2007):** Recombinant Newcastle Disease Virus (NDV) with inserted gene coding for GM-CSF as a new vector for cancer immunogene therapy. *Gene Therapy*; 14 (23): 1639 - 1649.

13. **Elankumaran S, Rockemann D and Samal SK. (2006):** Newcastle Disease Virus exerts oncolysis by both intrinsic and extrinsic caspase-dependent pathways of cell death. *Journal of Virology*; 80 (15): 7522 – 7534.
14. **Fábián U, Csatory C, Szeberényi J, Csatory LK. (2007):** p53-independent endoplasmic reticulum stress-mediated cytotoxicity of a Newcastle Disease Virus strain in tumor cell lines. *Journal of Virology*; 81(6): 2817 – 2830.
15. **Lorence RM, Pecora AL, Major PP, Hotte SJ, Laurie SA, Roberts MS, Groene WS, Bamat, MK. (2003):** Overview of phase I studies of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus. *Current opinion in molecular therapeutics*; 5(6): 618-624.
16. **Sinkovics JG, Horvath JC. (2000):** Vaccination against human cancers (review). *Intertional Journal of Oncology*; 16: 81–96.
17. **Liu TC, Kirn D. (2007):** Systemic efficacy with oncolytic virus therapeutics: clinical proof-of-concept and future directions. *Cancer research*; 67(2): 429-432.
18. **Apostolidis L, Schirmacher V, Fournier P. (2007):** Host mediated anti-tumor effect of oncolytic Newcastle Disease Virus after locoregional application. *International Journal of Oncology*; 31: 1009 – 1019.
19. **Takeda K, Kaisho T, Akira S. (2003):** Toll-like receptors. *Annual review of immunology*; 21(1), 335-376.
20. **Thompson AJ, Locarnini SA. (2007):** Toll-like receptors, RIG-I-like RNA helicases and the antiviral innate immune response. *Immunology and Cell Biology*; 85 (6): 435 – 445.
21. **Melchjorsen, J, Jensen SB, Malmgaard L, Rasmussen SB, Weber F, Bowie AG, Matiainen S, Paludan SR. (2005):** Activation of innate defense against a paramyxovirus is mediated by RIG-I and TLR7 and TLR8 in a cell-type-specific manner. *Journal of virology*; 79(20): 12944-12951.
22. **Washburn B, Weigand MA, Grosse-Wilde A, Janke M, Stahl H, Rieser E, Sprick MR, Schirmacher V, Walczak H. (2003):** TNF-related apoptosis-inducing ligand mediates tumoricidal activity of human monocytes stimulated by Newcastle Disease Virus. *Journal of Immunology*; 170(4): 1814 – 1821.
23. **Koks CA, Garg AD, Ehrhardt M, Riva M, Vandenberg L, Boon L, De Vleeschouwer S, Agostinis P, Graf N, Gool SW. (2014):** Newcastle disease virotherapy induces long-term survival and tumor-specific immune memory in orthotopic glioma through the induction of immunogenic cell death. *International Journal of Cancer*; 136: 313–325.
24. **Magyarics Z, Rajnavölgyi É. (2005):** Professional type I Interferon-producing cells-A Unique Subpopulation of Dendritic Cells. *Acta microbiologica et immunologica hungarica*; 52(3-4): 443-462.
25. **Kawai T, Akira S. (2005):** Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Current opinion in immunology*; 17(4): 338-344.
26. **Lindemann J. (1974):** Viruses as immunological adjuvants in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*; 355(1): 49-75.
27. **Forden C. (2004):** Do T lymphocytes correlate danger signals to antigen?. *Medical hypotheses*; 62(6): 898-906.
28. **Hengel H, Koszinowski UH, Conzelmann KK. (2005):** Viruses know it all: new insights into IFN networks. *Trends in immunology*; 26(7): 396-401.
29. **von Hoegen P, Zawatzky R, Schirmacher V. (1990):** Modification of tumor cells by a low dose of Newcastle Disease Virus: III. Potentiation of tumor specific cytolytic T cell activity via induction of interferon alfa, beta. *Cellular Immunology*; 126: 80 – 90.

- 30. Termeer CC, Schirmacher V, Bröcker EB, Becker JC. (2001):** Newcastle-Disease-Virus infection induces a B7-1/ B7-2 independent T-cell-costimulatory activity in human melanoma cells. *Cancer Gene Therapy*; 7(2): 316 – 323.
- 31. Washburn B, Schirmacher V. (2002):** Human tumor cell infection by Newcastle Disease Virus leads to upregulation of HLA and cell adhesion molecules and to induction of interferons, chemokines and finally apoptosis. *International Journal of Oncology*; 21(1) : 85 – 93.
- 32. Cassell WA, Garrett RE. (1965):** Virus de la enfermedad de Newcastle como agente antineoplásico. *Cáncer*; 18: 863-868.
- 33. Lorence RM, Scot Roberts M, O'Neil JD, Groene WS, Miller JA, Mueller SN, Bamat MK. (2007):** Phase 1 clinical experience using intravenous administration of PV701, an oncolytic Newcastle disease virus. *Current cancer drug targets*; 7(2): 157-167.
- 34. Freeman AI, Zakay-Rones Z, Gomori JM, Linetsky E, Rasooly L, Greenbaum E, Rozenman-Yair S, Panet A, Libson E, Irving CS, Galun, E. (2006):** Phase I/II trial of intravenous NDV-HUJ oncolytic virus in recurrent glioblastoma multiforme. *Molecular Therapy*; 13(1): 221-228.
- 35. Hotte SJ, Lorence RM, Hirte HW, Polawski SR, Bamat MK, O'Neil JD, Roberts MS, Groene WS, Major PP. (2007):** An optimized clinical regimen for the oncolytic virus PV701. *Clinical Cancer Research*; 13(3): 977 – 985.
- 36. Csatory LK, Csatory C, Gosztonyi G, Bodey B. (2006):** Promising MTH-68/H Oncolytic Newcastle Disease Virus therapy in human high grade gliomas Focus on Brain Cancer Research. 69 – 82, Nova Science Publishers, New York.
- 37. Csatory LK, Massey RJ. (1993):** "Method for treating viral diseases with attenuated virus" Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office, U.S. Patent No. 5,215,745.
- 38. Nelson NJ. (1999):** Scientific interest in Newcastle disease virus is reviving. *Journal of the National Cancer Institute*; 91(20): 1708-1710.
- 39. Sánchez D, Pelayo R, Medina L, Vadillo E, Sánchez R, Núñez L, Cesarman-Maus G, Sarmiento-Silva R. (2015):** Newcastle Disease Virus: Potential Therapeutic Application for Human and Canine Lymphoma. *Viruses*; 8(1): 3-14.
- 40. Zamarin D, Holmgaard RB, Subudhi SK, Park JS, Mansour M, Palese P, Merghoub T, Wolchok JD, Allison JP. (2014):** Localized oncolytic virotherapy overcomes systemic tumor resistance to immune checkpoint blockade immunotherapy. *Science Translational Medicine*; 6: 226 -232.
- 41. Schirmacher V, Bihari AS, Stücker W, Sprenger T. (2014):** Long-term remission of prostate cancer with extensive bone metastases upon immuno- and virotherapy: A case report. *Oncology Letters*; 8(6): 2403–2406.
- 42. Wu Y, He J, An Y, Wang X, Liu Y, Yan S, Ye X, Qi J, Zhu S, Yu Q, Yin J, Li D, Wang W. (2015):** Recombinant Newcastle disease virus (NDV/Anh-IL-2) expressing human IL-2 as a potential candidate for suppresses growth of hepatoma therapy. *Journal of Pharmacological Science*; 132(1):24–30.
- 43. Chai Z, Zhang P, Fu F, Zhang X, Liu Y, Hu L, Li X. (2014):** Oncolytic therapy of a recombinant Newcastle disease virus D90 strain for lung cancer. *Virology Journal*; 11(1): 84-92.
- 44. Buijs P, van Nieuwkoop S, Vaes V, Fouchier R, van Eijck C, Hoogen B Van Den. (2015):** Recombinant Immunomodulating Lentogenic or Mesogenic Oncolytic Newcastle Disease Virus for Treatment of Pancreatic Adenocarcinoma. *Viruses*; 7(6): 2980–2998.
- 45. Jebar AH, Errington-Mais F, Vile RG, Selby PJ, Melcher AA, Griffin S. (2015):** Progress in clinical oncolytic virus-based therapy for hepatocellular

carcinoma. *Journal of General Virology*; 96(7): 1533-1550.

46. Schirmacher V. (2016): Fifty Years of Clinical Application of Newcastle Disease Virus: Time to Celebrate! *Biomedicines*; 4(3): 16-29.

47. Peeters BP, de Leeuw OS, Koch G, Gielkens AL. (1999): Rescue of Newcastle disease virus from cloned cDNA: evidence that cleavability of the fusion protein is a major determinant for virulence. *Journal of Virology*; 73(6): 5001-5009.

48. Römer-Oberdörfer A, Mundt E, Mebatsion T, Buchholz UJ, Mettenleiter TC. (1999): Generation of recombinant lentogenic Newcastle disease virus from cDNA. *Journal of General Virology*; 80(11): 2987-2995.

49. Mebatsion T, Verstegen S, De Vaan LT, Römer-Oberdörfer A, Schrier CC. (2001): A recombinant Newcastle disease virus with low-level V protein expression is immunogenic and lacks pathogenicity for chicken embryos. *Journal of virology*; 75(1): 420-428.

50. Song KY, Wong J, Gonzalez L, Sheng G, Zamarin D, Fong Y. (2010): Antitumor efficacy of viral therapy using genetically engineered Newcastle disease virus [NDV (F3aa)-GFP] for peritoneally disseminated gastric cancer. *Journal of Molecular Medicine*; 88(6): 589-596.



***In vitro* Antimicrobial and Antioxidant activities and Chemical Composition of Essential Oils of the Leaf and Flower of *Origanum minutiflorum* O.**

Schwarz et. P. H. Davis

İsmihan GÖZE¹, Ahmet ALİM², Nazlı ERCAN^{3*}, Nilüfer VURAL⁴

¹Göze Pharmacy, Çarşıbaşı Street.No.7 Sivas-Turkey

²Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Cumhuriyet University, Sivas-Turkey.

³Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Cumhuriyet University Sivas-Turkey.

⁴Department of Chemical Engineering, Ankara University Faculty of Engineering, Ankara, Turkey

Geliş Tarihi / Received
10.11.2016

Kabul Tarihi / Accepted
24.12.2016

Yayın Tarihi / Published
31.12.2016

Abstract: It was aimed to determine chemical structure and *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil at the leaf and flower of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P. H. Davis. The essential oils of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) were analyzed via GC-MS method. Leaves were composed of carvacrol 44.96 % while the oil of the flowers was composed of 34.04 % carvacrol. The essential oils in leaves and flowers showed strong antimicrobial activity against to all bacteria except *Pseudomonas aeruginosa*. Antioxidant activity was analyzed systems of β -carotene/linoleic acid and DPPH. IC₅₀ values of the essential oils were found 110 μ g/ml and 105 μ g/ml respectively. Inhibition percentage of *Origanum minutiflorum* essential oil was found as 66% and 71% respectively.

Keywords: *Origanum minutiflorum*, Essential oils, Antimicrobial activity, Antioxidant activity

Origanum Minutiflorum O. Schwarz et. P. H. Davis Yaprak ve Çiçeklerinin Uçucu Yağlarının Kimyasal Kompozisyonu ile İnvitro Antimikrobiyel ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Özet: *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P. H. Davis yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu ile invitro antimikrobiyel ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) GS-MS metodu ile analiz edilmiştir. Etken maddesi karvakrol yapraklarda 44.96% iken çiçeklerde 34.04% olarak bulunmuştur. Bitkinin yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağları *Pseudomonas aeruginosa* hariç tüm bakterilere karşı güçlü antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Antioksidan aktivite β -karotene/linoleik asid ve DPPH metotlarıyla belirlenmiştir. IC₅₀ değerleri sırasıyla yapraklarda 110 μ g/ml ve çiçeklerde 105 μ g/ml olarak belirlenmiştir. İnhibisyon oranları ise 66% ve 71% tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Origanum minutiflorum*, antioksidan aktivite, antimikrobiyel aktivite

Sorumlu yazar: Nazlı ERCAN

Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Cumhuriyet University Sivas-Turkey

e-mail: nazliercan@yahoo.com

1. INTRODUCTION

Recently, the essential oils and different kind of plant extracts have been started to search as sources of natural products. Especially the antimicrobial, antioxidant activities of essential oils have used in for many practices, including alternative and natural medicines, pharmaceuticals, raw and processed food preservatives (3,4,24).

Origanum minutiflorum (*O.M*) is regarding Labiatae family including 3,000 plants grown in warm areas through the world (13, 16-18). *O.M* was an endemic at mountain habitats in Turkey (8).

Origanum species have been used for the cold and stomach ache (6,19,23,28), abdominal pain, rheumatism, and as an antiseptic (28), antigenotoxic (19), antibacterial and antifungal (23). Most chemical component of the essential oil of these species is carvacrol, gamma-terpinene, thymol and p-cymene (6-8,15,20).

Many researchers have been reported antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil in *Origanum species* and *O.M* recently (2,7,11,15,20, 27). But there isn't any study about essential oils of flowers and leaves at *O.M*.

The purpose of the study was to seek the antioxidant and antimicrobial activities and compare the chemical formation of essential oils between flowers and leaves at *O.M* which grown in Turkey.

2. MATERIAL AND METHODS

Material of Plant: *O.M* plant has been gathered in Senirkent-Isparta, Turkey and the taxonomic identification was done by Dr. Erol Donmez (Ph.D.) at the Department of Biology, Cumhuriyet University, Faculty of Science, (Sivas-Turkey) during flowering and has been stored at the Herbarium of the Department of Biology, Cumhuriyet University Faculty of Science, Sivas, Turkey (CUFH-Voucher No: ED 11001/ OM).

Isolation of the Essential Oil: The parts of *O.M* were treated for 3 h to water distillation via Clevenger-type apparatus (Flowers; yield 2.3 % v/w and Leaves yields 2.9% v/w). After the process the products were stored at +4°C until analysed.

Analysis of Gas Chromatography/mass Spectrometry (GC/MS): The chemical composition in essential oil of the *O.M* was analysed via gas chromatograph/mass spectrometer (Shimadzu QP5000, Kyoto, Japan) with a 70 eV EI quadrupole detector and a GL Science capillary column TC-5 (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 mm). The components identification was compared by of Kovats as described in. NBS75K-MS Library and with MS Data were used for identification (1).

Antimicrobial Activity

Microbial Strains: Antimicrobial and antifungal activities of the oil were evaluated against 3 Gram-positive bacteria and 5 Gram-negative bacteria and 1 fungi as shown in Table2 by the disk diffusion method in the Department of Contagious Diseases Research, Refik Saydam Hygiene Center, Ankara-Turkey. Bacterial cultures were studied in Mueller Hinton Agar (MHA-Oxoid-CM337) and the yeast was cultured in Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid-CM41). The tests were repeated in three times. Average and standard deviation (SD) of the inhibition zone diameters were calculated.

Antimicrobial Assay (Disc Diffusion Assay): It has been done for to evaluate antimicrobial activities of the essential oil (21, 22). Suspensions of the tested microorganisms (0.1 ml 10⁸ cells per ml) were spread on the solid media plates. The filter paper disks (6 mm in diameter) were placed on the plate after being treated with 10 µl of oil, incubated at 4°C for 2h and at 37°C for 24 h respectively and at 30°C for 48 h for the yeast. The

diameters of the inhibition zones were characterized as millimetres.

Antioxidant Activity

The principle of assay in the presence of a hydrogen donating antioxidant reduction of radical solutions in alcoholic 2,2- diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH). It observed a band at 517 nm for DPPH (10,12). Butylatedhydroxytoluene (BHT) was used as a positive control. Each of tests was done in three times.

The reducing of the yellow colour of β -carotene caused by its reaction with radicals which are composed by linoleic acid oxidation (10,12). The rate of β -carotene decolorizing can be reducing in the presence of BHT as an antioxidant as shown in 490 nm.

3. RESULTS

About 33 compounds were formed (93.19%) of the complete oil from *O.M* flowers. The ratio of the essential oil contents is carvacrol (34.04%), p-cymene (12.42%), 1-borneol (9.17%) and terpinen-4-ol (5.12%) and the total (60.75%). *O.M* leaves; GC/MS analysis resulted in the identification of 30 compounds (97.15%) of the total oil carvacrol (44.96%), endo-borneol (9.42%), terpinen-4-ol (6.68%) and m-cymene (5.74%) the components (66.80%) of the essential oil was the main component as shown Table1.

Table1. Chemical composition of *Origanum minutiflorum* essential oil

Retention time	Compounds	<i>Origanum minutiflorum</i> flowers components%	<i>Origanum minutiflorum</i> leaves componenets %
12.508	α -thujene	1.10	0.65
12.770	α -pinene	1.97	1.1
13.555	Camphene	1.23	0.56
15.183	β -pinene	0.35	0.24
16.418.	β -myrcene		1.45
17.500	delta-3-carene	0.15	
18.000	α -terpinene	0.62	1.26
18.815	m-cymene		5.74
18.531	1,8 cineole	2.62	6.09
18.910	D,l-limonene	0.42	0.29
18.968	p-cymene	12.42	
20.667	gamma-terpinene		3.39
21.203	cis-sabinene-hydrate		1.80
21.220	trans-sabinene-hydrate	1.28	1.80
21.875	ethyl amyl carbinol	2.32	0.28
23.808	Linalool	2.78	2.54
23.900	Thujylalkol	0.29	0.31
24.09	farnestylalchol	0.18	
24.1	amyl vinilcarbinol	0.68	1.14
25.300	Camphor		0.18
26.115	Cuminol	0.27	
27.712	1-borneol	9.17	
28.500	terpinen-4-ol	5.12	6.68
28.650	caren-4-ol	0.50	
29.785	dihidrocarvone	0.27	
29.910	d-carvone		0.54
32.283	endo-borneol		9.42
33.408	methyl-thymyl ether	0.56	
36.092	Carvone	1.01	
38.625	Carvacrol	34.04	44.96
37.258	Thymol	0.83	1.03
39.215	myrceneacetate	0.25	
39.750	sabinyasetate	0.22	0.69
40.845	α -terpinylasetate	0.45	

41.441	Cuminol		0.13
41.978	dihidrocarveolasetat	0.32	
45.983	trans caryophyllene	1.84	3.18
46.327	Junipene		0.30
46.600	d-nerolidol	2.45	0.98
47.992	α -humulene	0.23	
53.543	Spathulenol		0.88
56.125	Farnesol	3.3	0.25
58.366	p-terbutylcatechol	3.95	0.84
Total		93.19%	97.15%

Table2. Antimicrobial activity of the essential oils of *Origanum minutiflorum* flowers and leaves using agar disc diffusion method and Minimum inhibitory concentrations (MIC).

Microorganisms	<i>Origanum minutiflorum</i> leaves ^a		<i>Origanum minutiflorum</i> flowers ^a		Gentamycin ^d	Nystatin ^e
	Disc diffusion method ^b	MIC ^c	Disc diffusion method ^b	MIC ^c		
<i>Staphylococcus aureus</i>	90±1.52	26.50	90 ±1.62	12.25	23±0.54	-
<i>Escherichia coli</i>	50±0.88	16.25	34 ±0.23	21.5	16±0.20	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18±1.01	45.50	11±0.75	40.10	20±0.28	-
<i>Salmonella typhi</i>	42±1.16	26.50	53±1.43	34.60	10±0.18	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	65±1.18	38.60	65±1.05	32.25	20±0.40	-
<i>Proteus vulgaris</i>	64±1.68	65.10	33±1.75	50.50	22±1.45	-
<i>Bacillus subtilis</i>	90±1.35	62.50	72±1.30	90.50	29±0.80	-
<i>Corynebacterium diptheriae</i>	90±1.22	46.25	51±1.57	30.10	23±0.15	-
<i>Candida albicans</i> -	50±1.43	26.40	46±1.54	30.50	-	25±0.16

^aResults are means of three different measurements.

^bAgar disc diffusion method, diameter of inhibition zone (mm) including disk diameter of 6 mm;

^cMinimum inhibitory concentrations (MIC)

^dAntibacterial; ^eAntifungal.

Table3. Effects of essential oil of *Origanum minutiflorum* and positive control (butylated hydroxytoluene) on the *in vitro* free radical DPPH scavenging and β -carotene-linoleic acid systems^a

Sample	Inhibition IC ₅₀ (μ g/ml) with DPPH scavenging	% Inhibition (μ g/ml) with β -carotene-linoleic acid system
<i>Origanum minutiflorum</i> (Leaves)	110	66
<i>Origanum minutiflorum</i> (Flowers)	105	71
Butylated hydroxytoluene (BHT)	10.5	100

^aResults are means of three different measurements.

4. DISCUSSION AND CONCLUSION

It wasn't observed any study about leaf and flower during the literature reviews. But carvacrol (68.23%) was found to be the main component of essential oil a study related with aerial parts of *O.M* which was carried out by Dadalıoğlu et al., (2004), Bayramoğlu (2005) and Vardar-Unlu et al., (2007) reported that essential oil of *O.M* which grown in Turkey contained carvacrol (78.8%), γ -terpinen

(3.7%) and p-cymene (3.5%) as major components. This finding was similar to our finding of flowers (34.04%), leaves (44.96%) and total carvacrol (79.0%). Baydar (2005) reported effects of essential oil content and formation in *O.M* different harvest times. According to these reports, the major content of the essential oil was carvacrol (60.3-92.3%).

Antimicrobial activities of 10 μ l amount of the

essential oils of *O.M* leaves and flowers oils had a superiority effect. The essential oils in leaves and flowers observed strong antimicrobial activity against to all bacteria except *Pseudomonas aeruginosa* as shown Table2. P-cymene biological precursor of carvacrol, does not act as antibacterial when used single (5,26). But when used with carvacrol, a synergism against to *B. cereus* has been recorded (26). These study results are similar to Dadaloğlu et al., (2004), Vardar-Unlu et al., (2007) and Başer et al. (1993) as antimicrobial activity.

We could find a small number of studies about to the essential oils compositions of *O.M*. (2,8,15,27). But there aren't any researches about antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from the flowers and leaves of *O.M*. This study was evaluated the *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of treatment against to microorganisms and pathogenic yeast.

Although a few studies are report about the chemical composition, activities of antioxidant, antifungal, antiradical and antibacterial in *Origanum* species (2, 14, 24, 25) only a few studies have been figure out in *O.M* (15,27).

Because of it has strong antibacterial activity in antioxidant activity tests *O.M.*, this plant can be used as a natural food protective against microorganisms that produce toxic and unwanted chemicals which can cause poisoning in the food industry. Antibiotic-resistant microorganisms are rapidly spreading and new antibiotics are needed. Plants are an important resource for finding new antimicrobial compounds.

According to our knowledge, this is the first research about the essential oil composition of *O.M* leaves and flowers separately and the antioxidant, antimicrobial activities of this species. These findings supporting that the plant of essential oil can be use in pharmaceutical and food industries.

Acknowledgement

The authors of the present study kindly appreciate the contributions of Dr. Erol Dönmez and Pharmacist Ömer Tola from Isparta.

REFERENCES

1. **Adams RP. (2007):** Identification of essential oil components by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream IL: Allured Publishing Corporation.
2. **Aliyiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. (2001):** Composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Origanum* species. *J Agric Food Chem*, 49:4168-4170.
3. **Barrata MDS, Dorman HJD, Deans SG. (1998):** Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *J Essent Oil Res*, 10:618-627.
4. **Başer KHC, Tumen G, Sezik E. (1991):** The Essential Oil of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz etP.H.Davis. *J Ess Oil Res*, 3:445-446.
5. **Baser KHC, Kirimer N, Tumen G, Sezik E. (1993):** Composition of the Essential Oil of Turkish *Origanum* Species with Commercial Importance. *J Essential Oil Res*, 5:619-623.
6. **Baser KHC. (1995):** Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey. Proceedings of the 13 th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils. Istanbul-Turkey, AREP Publ, 15-19 October Vol.2, pp. 67.
7. **Başer KHC. (2002):** The Turkish *Origanum* Species, in *Oregano, The Genera Origanum and Lippia*, ed. by Kintzios SE, Taylor and Francis, London, pp. 108-126.
8. **Baydar H. (2005):** The Effects of Different Harvest Dates on Essential Oil Content and Essential Oil Composition in *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P.H.Davis (English Abstract). *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi*

Dergisi, 18(2):175-178.

9. Bayramoğlu EE. (2005): Natural and Environment-friendly New Bactericide for Leather Industry: Essential Oil of *Origanum minutiflorum*. *J Biol Sci*, 5(4):455-457.

10. Burits M, Bucar F. (2000): Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res*, 14:323-328.

11. Cosge B, Turker A, İpek A, Gurbuz B, Aslan N. (2009): Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from ariel parts and corollas of *Origanum accutidens* (Hand.-Mazz) Letswart, an endemic Species to Turkey. *Molecules*, 14:1702-1712.

12. Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O. (1997): Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv Chim Acta*. 80.

13. Cetin H, Yanikoglu A. (2006): A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 31(1):118-122.

14. Cetin H, Erler F, Yanikoglu A. (2006): Toxicity of Essential Oils Extracted from *Origanum onites* L. and *Citrus aurentium* L. against the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams. *Folia biologica (Kraków)*, 54(3-4):153-157.

15. Dadalioglu I, Evrendilek GA. (2004): Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), Bay Laurel (*Laurusnobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *J Agricult Food Chem*, 52:8255-8260.

16. Davis PH. (1982): Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press: Edinburgh, Vol.7, pp.349.

17. Davis PH, Mill RR, Tan K. (1988): Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, 10:145.

18. Guner A, Ozhatay N, Ekim T, Baser KHC. (2001): Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Second Supplement, Edinburgh University Press, Vol. 11, pp. 122-127 and 147-150.

19. Ipek E, Zeytinoglu H, Okay S, Tuylu BA, Kurkcuoglu M, Baser KHC. (2005): Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames *Salmonella*/microsomal test. *Food Chem*, 93:551-556.

20. Kirimer N, Baser KHC, Tumen G. (1995): Carvacrol- rich plants in Turkey. *Chem Nat Comp*, 31:37-41.

21. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997): Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. 6th ed, Approved Standard, M2-A6, Wayne Pa.

22. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1999): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 9th International Supplement, M100-S9, Wayne Pa.

23. Paster N, Menasherov M, David U, Juven B. (1995): Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *J Food Prot*, 58:81-85.

24. Sokmen A, Jones BM, Erturk M. (1999): The *in vitro* antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *J Ethnopharmacology*, 67:79-86.

25. Sokmen M, Serkedjieva J, Daferera D, Tepe B, Akpulat H, Sahin F, Sokmen A. (2004): The *in vitro* antioxidant, antimicrobial and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J Agric Food Chem*, 52:3309-3312.

26. Tepe B, Daferera D, Sokmen M, Polissiou M, Sokmen A. (2004): The *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) Letswaart. *J Sci Food and Agriculture*, 84: 1389-1396.

27. Ultee A, Bennik MHJ, Moezelaar R. (2002):

The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microb*, 68:1561-1568.

28. Vardar-Unlu G, Unlu M, Donmez E, Vural N. (2007): Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis. *J Sci Food and Agriculture*, 87(2):255-259.

29. Yesilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Goto K, Ikeshiro Y. (1993): Traditional medicine in Turkey IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. *J Ethnopharmacol*, 39:31-38.



Köpeklerde Spermanın Alınması, Saklanması ve Suni Tohumlamada Kullanılmasına Kısa Bir Bakış

Öğuzhan KALKAN¹ Ömer UÇAR^{2*}

¹Kalkan Veteriner Hekim Muayenehanesi, Merzifon/Amasya-TÜRKİYE

²Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Erzurum-TÜRKİYE

Geliş Tarihi / Received
10.10.2016

Kabul Tarihi / Accepted
25.12.2016

Yayın Tarihi / Published
31.12.2016

Özet: Günümüzde biyoteknolojik bir olgu haline gelen suni tohumlama yönteminden, özellikle vücut yapılarının farklılığı nedeniyle çiftleşemeyen köpeklerde büyük ölçüde yararlanılmaktadır. Suni tohumlama; alınan spermanın, ortam şartlarından korunması amacıyla sulandırılması, bazı kısa ve uzun süreli yöntemler kullanılarak saklanması ve uygun tekniklerle dişiye aktarılması ile olasıdır. Dolayısıyla, bu kısa derlemede, köpeklerde sperma alma sırasında erkeğe yaklaşım, spermanın alınması (parmak manipülasyonu, koni kauçuk lastik ve el masajı ile elektrik uyarımları (elektroejekülatör)), sulandırılması (Tes, Bes, Hapes, Pipes, Tris, Tes/Tris ve ticari sulandırıcılar ile 1:1-1:5 sulandırma oranında), kısa (+4 °C'de) - uzun süreli (ampul, pellet ve payet ile) dondurarak saklanması (sıvı azot içinde, -196 °C'de) ve suni tohumlama yöntemleri (kateterle intravaginal, Norveç kateteri ile intrauterin, endoskopik yöntemle intrauterin ve cerrahi teknikle intrauterin) hakkında kısa bilgiler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: köpek, sperma alımı, dondurma-eritme, suni tohumlama

A Brief Overview of Semen Collection, Cryopreservation and its Usage in Artificial Insemination in Dogs

Summary: Today, the methods of artificial insemination, that have recently become a biotechnological phenomenon, have being used in dogs especially for those partners that are largely unable to mate because of differences in their body sizes. Artificial insemination is likely only by diluting the semen collected in order to protect it from the environmental conditions, by using some short- and long-term preservation methods and by transferring it into the females with proper techniques. Therefore, in this brief review, some data about the approach to the male at the time of semen collection, as well as the collection itself (digital manipulation, conic plastic rubber along with hand massage, and electrical stimulations (the electroejeculator)), dilution (Tes, Bes, Hapes, Pipes, Tris, Tes/Tris and commercial extenders, at 1:1-1:5 dilution rate), short (at +4 °C) - and long-term (in ampoule, pellet and straw) frozen storage (within liquid nitrogen, at -196 °C) of semen and artificial insemination methods (intravaginal catheter, Norwegian intrauterine catheter, endoscopic intrauterine and surgical intrauterine technique)) are given in dogs.

Key Words: dog, semen collection, freezing-thawing, artificial insemination

Sorumlu yazar: Ömer UÇAR
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı
25240-Yakutiye
Erzurum-TÜRKİYE
e-mail: oucar6975@hotmail.com

1. GİRİŞ

1.1. Kısa Tanım ve Tarihçe

Suni tohumlama, uygun teknik ve yöntemlerle erkekten alınan spermanın yine uygun teknik ve yöntemlerle aynı türden dişilere nakledilmesidir. Bu uygulamanın gerçekleştirilebilmesi, erkeklerden spermanın bol miktarda, kaliteli ve tekniğine uygun olarak alınması ile olasıdır. Bu bakımdan, hayvan türlerine özgü farklı sperma alma ve değerlendirme yöntemlerinin yeterince bilinmesi ve uygulanması gerekmektedir. Son yıllarda büyük gelişme gösteren ve günümüzde biyoteknolojik bir olgu haline gelen suni tohumlama yöntemi, kapsadığı konularda başlıca bir endüstrinin doğmasına yol açmıştır. Bu amaçla, kullanılan alet ve malzemelerin üretimi ve donmuş sperma ticareti bakımından uluslararası ilişkileri bulunan bir sanayi ve ticaret dalı haline almıştır. Suni tohumlama ile erkek genotipinin en uygun ve yaygın şekilde değerlendirilebilme şansının bulunduğu gibi, bulaşıcı genital organ hastalıklarının yayılmasını önlemek ve yavru verimi oranını artırmak yönünden de bu yöntem en seçkin ve kolay bir yaklaşım olmaktadır. Son yıllardaki suni tohumlama faaliyetleri, hayvanların ıslah çalışmalarından ziyade özellikle sağlıklarının korunması amacıyla öne çıkmıştır.

Dünyada ilk suni tohumlama, 13. yüzyılda Arap aşiretlerince kısıraklarda uygulanmıştır. Birinci Dünya Savaşı'nın bitimiyle suni tohumlamanın Sovyet Rusya'da yaygın olarak kullanılmasından sonra, ilerleyen zamanlarda Avrupa ülkeleri ve ABD'de önemli uygulama alanı bulmuştur. Bilimsel olarak ilk suni tohumlama çalışmaları, 1780 yılında İtalyan fizyolog Abbe L. Spallanzani tarafından başlatılmıştır (8). Türkiye'de ise bu çalışmalar ilk olarak koyunlarda 1936'da, kısıraklarda 1939'da, ineklerde ise 1949 yıllarında başlamıştır.

Bu bağlamda, spermanın özelliklerini yitirmeden hacmini ve yaşama süresini artırarak saklama

olanakları üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır. Yapılan bu yoğun bilimsel çalışmalar sonucunda, hem kısa- hem de uzun süreli olarak, spermanın dölleme gücünü kaybetmeden saklanabileceği ile ilgili bilgiler zaman içerisinde ortaya konulmuştur. Köpeklere bakıldığında, suni tohumlamanın kullanılabilmesi birçok durum mevcuttur. Köpeklerde suni tohumlamanın yapılmasının asıl nedeni dişi ve erkeğin çeşitli nedenler ile çiftleşmemesidir (1) ve hayvan sahiplerinin isteğidir (8). Dişilerde; bunun en sık nedenleri; Vajinal darlık, konformasyonel kusur, arka bacaklarda zayıflık, psikolojik sorunlar ve ağrı gibi problemlerdir. Yine, sebebi bilinmeyen infertilite sorunlarında da suni tohumlama denenebilir. Erkeklerde; halsizlik, artrit gibi iskelet sistemi sorunları, erken ejakulasyon ve konformasyonel defektler doğal çiftleşmenin olmamasının nedenlerinden bazılarıdır. Deneyim yokluğu/eksikliği, yetiştirilme tarzı olumsuzlukları gibi psikolojik sorunlar da suni tohumlamanın endikasyonları arasındadır.

Bazı hayvan sahipleri bulaşıcı hastalıkların kontrolü ve bunların önüne geçilmesi için suni tohumlama istemektedir. Doğal çiftleşme ile erkek köpeklerden dişilere bulaşabilecek enfeksiyöz ajanlar suni tohumlama ile de geçebilecek özelliğe sahiptir.

Ancak, suni tohumlama ile dişi köpeklerden erkeklere geçebilecek enfeksiyonlar engellenmiş olur. Suni tohumlamada kullanılacak tüm dişi ve erkek köpekler başta Brucella olmak üzere cinsel yolla aktarılabilecek enfeksiyonlardan arı olmalıdır.

Bazı ırk erkek köpeklerde çiftleşmeden sonra prostat kanaması ve hemospermi görülebilir. Bu kanama Von Willebrand hastalığı ile ilişkili olabilir, ama bu hastalık olmayanlarda da görülmüştür. Suni tohumlama böyle bir sorun riski olan

köpeklerde kullanılabilir. Herhangi bir temas olmadığından kanama ihtimali de çok azalacaktır. Köpeklerde suni tohumlama yetiştiricinin veya köpek sahibinin isteği doğrultusunda da herhangi bir sorun olmadan da yapılabilir. Yine saf ırkların ve değerli damızlık erkek köpeklerin daha verimli bir şekilde kullanılması ve sperma nakline olanak sağlanması için de suni tohumlama yapılabilir (1).

1.2. Sperma Alma Sırasında Erkek Köpeğe Yaklaşım

Erkek köpekten ilk kez sperma alınacaksa, ortamda östrustaki bir dişi köpeğin bulundurulması zorunludur (Erkek çok istekliyse bazen buna gerek olmayabilir). Ortamda östrustaki bir dişi köpeğin bulunması, elde edilecek spermanın kalitesini (özellikle sperm yoğunluğunu) arttırabilir. Bu amaçla, kızgınlıktaki bir dişi köpek bulunamazsa kısırlandırılmış bir dişiye düşük doz östrojen uygulanarak östrusa getirilebilir. Ayrıca, köpek feromonları da kullanılabilir. Bunlar; hydroxy benzoik asit ya da dondurulmuş halde saklanan östrustaki dişi köpeklere ait vajinal svablardır (1).



Şekil 1. Vajinal Svab Almada Kullanılan Pamuk Çubuklar (1).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, spermanın alınmasından 15 dakika önce erkek köpeğe 0.1 mg/kg PGF₂α uygulanması ile alınan sperm sayısında önemli derecede artışlar kaydedilmiştir. Erkek köpekler vajinal svablara, sentetik kimyasal maddelerden daha iyi yanıt vermektedir. Spermayı

alan kişinin tecrübesi de bu uygulama sırasında sperma almayı etkileyebilmektedir.

Erkek köpek; bulunduğu ortamın yaşadığı yerden farklı olması sebebiyle çevresel faktörlerden etkilenmekte, yaşadığı stres ve özellikle klinik ortamında almış olduğu koku ve farklı türden hayvanların sesleri (klinikte bulunan kedi ve diğer köpeklerden) sperma alma sırasında konsantrasyonu olumsuz etkilemektedir. Sperma alma sırasında erkek köpeğin yanında sahibinin de bulunması yararlı olacaktır (Hem hayvanın güven duymasına ve rahat zapt edilmesini sağlar). Sperma alma işlemi sırasında erkek köpeğin ağrı duymasına neden olabilecek her türlü rahatsızlıklar (orşitis, prostatitis, ayak, bel ve kalçadan köken alan ağrılar) sperma alınırken dikkat edilmesi gereken diğer durumlardır (1).

2. ERKEK KÖPEKLERDEN SPERMA ALMA TEKNİKLERİ

Günümüzde köpeklerden üç değişik yöntemle sperma alınabilmektedir; a) parmak manipölasyonları, b) suni vajen ve c) elektroejakülatör ile sperma alma (1).

2.1. Parmak Manipölasyonu ile Spermanın Alınması

Köpeklerden penis masajı ile sperma almada araştırıcılar iki ayrı teknik kullanmışlardır. Bunlardan ilki; boğa suni vajeninden adapte edilen kauçuk koni kılıfın penis üzerine geçirilmesi ile uygulanan el masajı tekniği, diğeri ise parmak manipölasyonları tekniğidir.

İlk yöntemde, suni vajen ile dereceli toplama kadehi arasında irtibatı sağlayan konik kauçuk lastikten (irtibat hunisi) yararlanılabilir. Ortamda östrustaki bir dişi köpeğin bulunması (özellikle ilk kez sperma alınan deneyimsiz köpekler için) sperma alımında kolaylık sağlar. Sperma, kaygan olmayan bir zeminde ve sessiz bir alanda alınmalıdır. Uygulayıcı, sol elinde konik sperma toplama aracı olduğu halde erkek köpeğin sağında

durur. Sağ eli prepusyum üzerine ileri geri kaydırma hareketleri yaparak ereksiyonu uyardırmaya çalışır. Ereksiyonun ilk belirtisi olarak bulbus glandis şişmeye başlar. Penisin kavernoöz gövdesi kanla dolduğunda ereksiyon gerçekleşir. Peniste kan basıncının artmasıyla ereksiyon sinirsel olarak uyarılır ve bu sırada venöz kanın geri dönmesi kısmen inhibe olur ve penis arterleri genişler. Ereksiyon tam olarak gerçekleşmeden önce, prepusyum geriye doğru çekilerek bulbus glandis açığa çıkartılır ve konik sperma toplama aracı penis üzerine geçirilir.

Eğer bulbus glandis prepusyumdan dışarı çıkarılmadan önce tam bir ereksiyon gerçekleşirse, hayvan ağrı duyar ve hızla ereksiyon kaybolur.

Toplama hunisini tutan elin baş ve işaret parmakları, bulbusun gerisine hafif ve ritmik basınçlar uygulamaya başlar. Pelvik itmelerin pik seviyeye ulaşmasını takiben (yaklaşık 15-30 saniye), penis kauçuk toplama hunisiyle birlikte kaudale doğru çevrilir. Ejakulatın birinci ve ikinci fraksiyonları ilk 1-2 dakika içinde gelir. Toplamda üç fraksiyonlu olan spermanın sperm yönünden zengin 2. fraksiyonu süt görünümünde ve 0.5-5 ml ortalama hacimdedir (1, 8).



Şekil 2. Köpekten El Masajı ile Spermanın Alınması.

Sperma ejaküle edildikten yaklaşık 1-3 dakika sonra prostat kaynaklı berrak bir sıvı (3. fraksiyon) gelmeye başlar. Bu kısım, son kısım ve 5-45 dakika içerisinde 5-40 ml hacimde olabilir.



Şekil 3. Spermatozoondan Zengin 2. Kısım (1).

Bu yöntemde, sperm yönünden zengin kısmın geldiği zamanın takip edilmesi çok güçtür ve çoğu zaman ejakulatın kısımları istenmeden birbirine karışmaktadır. Yine bu yöntemle, sperma alınırken prepusyumda toplanan *smegma preputi*, sperma numunesini kontamine edebilir.

Cam huni ve dereceli toplama kadehi yardımıyla, parmak manipülasyonları yöntemiyle sperma en rahat tarzda alınabilir. Çoğu köpek, parmak manipülasyonlarıyla sperma vermeye yatkındır. Hayvan yerde ve ayaktaiken sperma alınabilir.

Kızgınlıkta olan bir dişi köpeğin ortamda bulunması sperma alma işlemini kolaylaştırır, fakat her zaman gerekli değildir. Bu yöntemde de ortamda dişi köpek varlığı, alınan spermadaki sperm sayısını yükseltebilir.

Bir eline eldiven giymiş sperma alacak kişi, erkek köpeğin sol arka kısmından ve prepusyum üzerinden bulbus glandis'in kaudal kısmına hafifçe masaj yapar. Sperma alma esnasında, kauçuk eldivenin alınan ejakulata temas etmesi, motiliteye olumsuz etki yapabileceğinden, temastan sakınılmalıdır.

Yarı ereksiyon meydana geldiğinde, prepusyal kılıf geriye doğru çekilir. Bulbus glandisin arka kısmına prepusyumun geri çekilmesi ve basınç uygulamaları sonrası ereksiyon sağlanır. Pelvik itme hareketleri başladığında, penis sperma toplama kadehine çarpabilir. Hemoraji ve travmaya

sebepe olmamak için, sperma toplama kadehi uzakta tutulur. Erkek köpek sperma vermeye isteksizse, toplama kadehi elin başparmağı aracılığı ile tutularak, glans penisteki ürethral oluşuma (*urethral orificium*) değdirilmek suretiyle ejakulasyon uyarılabilir. Pelvik itme hareketlerinin bitmesinden sonra, penis köpeğin arka ayakları arasından geriye doğru çevrilir. Bu sırada, bulbus glandis'in arka kısmına baş ve işaret parmakları arasında ritmik basınçlar uygulanmalıdır. Sperma alma işlemi sona erdiğinde, penis antibiyotikli bir solüsyon ile yıkanmalı ve prepusyum içerisine girmesi sağlanmalıdır (1).

2.2. Koni Kauçuk Lastik ve El Masajı ile Spermanın Alınması

Konik kauçuk lastik ucuna toplama kadehi yerleştirilir ve lastik içine vazelin ya da benzeri bir kayganlaştırıcı sürülür. Ortamda östrustaki bir diş köpeğin varlığı yararlı olmaktadır.



Şekil 4: Koni Kauçuk Lastik, Kayganlaştırıcı Pomat ve Toplama Tüpü (1).

Sperma alınırken, erkeğin dişinin vulva bölgesini koklaması sağlanmalıdır. Bu şekilde, erkek köpek daha rahat ve daha fazla sperma verebilir. Bir kişi erkek köpeğin sağ tarafında durarak, diş köpeği koklamasına izin verir.

Spermayı alacak kişi, erkek köpeğin sağ tarafında durarak sağ elinde konik kauçuk lastiği tutar.



Şekil 5: Koni Kauçuk Lastik ve El Masajı ile Sperma Alınması (1).

Penise prepusyumun dış kısmından yavaşça masaj yapan uygulayıcı, ereksiyon şekillenmesi sonrası penisi konik kauçuk lastiğin içine sokar. Pelvik itme hareketleri sonrası, lastik avuç içinde tutulur ve bulbus glandis'in arka kısmına basınç uygulanarak penis geriye döndürülür. Bu yöntem, sperma alınırken spermanın üç fraksiyonu birbirinden ayrı toplanamadığı için dezavantaj içerir (1).

2.3. Elektrik Uyarımları ile Spermanın Alınması (Elektroejakülatör)

Köpeklerden elektroejakülatör ile spermanın alınması mümkündür. Ancak, genel anestezi altında uygulanan bu yöntem zorunlu olmadıkça başvurulmamalıdır.



Şekil 6. Elektroejakülatör Cihazı (1).

Bu yöntemde, bir rektal prob ve elektrostimülatör'e ihtiyaç vardır. Bipolar rektal prob, tekniğine uygun olarak rektuma yerleştirildikten sonra, elektriksel açıdan 140-180 mA akım ve 10-20 Volt gerilimlerle belirli aralıklarla ejakulasyon merkezi uyarılır ve sperma alınır. Elektroejakulasyon yönteminde, elde edilen sperma hacmi, prostat bezinin fazla uyarılmasından dolayı doğal çiftleşmeden daha fazladır. Ancak, elde edilen ejakulata idrar karışma olasılığından dolayı tercih edilen bir metot değildir. Çok kıymetli damızlık köpeklerden, diğer yöntemlerle sperma alınamadığı zorunlu hallerde kullanılabilir (1).

3. KÖPEK SPERMASININ SAKLANMASI

3.1. Köpek Spermasının Kısa Süreli Saklanması

Sperma soğutulurken ya da nakledilirken daima sulandırılmalıdır. Sulandırıcı; pH'nın stabil kalmasını, enerjinin korunmasını, nakil sırasında sarsıntı ve ısı farklılıklarının oluşturduğu zararlara karşı spermatozoal membranı korumaya yardımcı olmaktadır.

Dondurulmuş spermaya kıyasla, sulandırılıp soğutulmuş sperma ile yapılan tohumlama sonucu daha yüksek gebelik elde edilmektedir. Sulandırılıp soğutulan köpek spermasının potansiyel fertilitesi üç faktöre bağlı olarak korunmaktadır. Bunlar;

- Düşük ısıda sperm metabolizmasının azaltılması,
- Sulandırıcı katılarak soğuk şokundan korunması,
- Soğuk şokuna karşı köpek sperm hücrelerinin direncinin yüksek olmasıdır.

Sperma sulandırıcıları; uygun osmotik basınç, besi ortamı, metabolik artıkları absorbe edebilme ve spermatozoonları soğüğün zararlı etkisinden koruyabilme gibi genel özelliklere sahip olmalıdır. Spermatojistik özellikleri saptanmış ve sulandırılmış spermanın +5 °C'ye soğutulması ayrı bir özen gerektirir. Çünkü, 17 °C'nin altındaki ani ısı değişikliklerinde özellikle akrozomda geri-

dönüşümsüz (*irreversible*) bozukluklar oluşabilmektedir (8, 9).

Kryoprotektant madde ilave edilmeksizin alınan spermanın soğutulması sonucu sperm hücrelerinin yaşam süresi çok kısa sürer. Soğuk şoku sırasında, sulandırıcıdaki fosfolipidler, sperm hücrelerinin plazma membranının lipid yapısı ile karşılıklı etkileşime girer ve korunmayı sağlarlar. Sperm hücresinin membranına bağlanan lipoproteinler, sperma saklamada hücresel bütünlüğün (14) korunmasına yardımcı olur (1, 8).

3.2. Köpek Spermasının Uzun Süreli Saklanması

3.2.1. Köpek Spermasının Dondurulmasında

Kullanılan Sulandırıcılar

Köpek yetiştiriciliğinde, diğer hayvan türlerinde olduğu gibi, dölerme hastalıklarının önlenmesi, genetik yapılarının iyileştirilmesi, üstün bireylerden en yüksek ölçüde yararlanılabilmesi, seçkin damızlık elde edilmesi ve gen kaynaklarının korunması haliyle büyük önem taşır.



Şekil 7: Spermanın Su Kabında Soğutulması (1).

Bu kapsamda, birçok köpek ırkında spermatojistik özelliklerin ortaya konulmasının yanı sıra, spermanın uygun solüsyonlarla sulandırılarak dondurulması, kısa ve uzun süreli saklanması, gerektiğinde suni tohumlama için kullanılması ve bunu takiben yüksek dölverimi elde edilmesi

hedefine yönelik araştırmalar uzun yıllardan beri sürdürölmektedir.

Günümüzde köpek spermasının kısa süreli ya da uzun süreli (dondurularak) saklanması amacıyla sperma sulandırıcısı olarak çeşitli solüsyonlar kullanılmaktadır.

Bunlar arasında; Tes (N-Tris [hydroxymethyl] methyl-2 amino-methene sulfonic acid), Hepes (N-2 [hydroxymethyl] piperazine-N-2-ethane sulfonic acid) ve Pipes (piperazine-N, N-bis-2-ethane sulfonic acid) gibi Tris'e kıyasla daha iyi buffer kapasitesine sahip *zwitterionic* (çift kutuplu) solüsyonlar kullanılmakla birlikte, son yıllarda köpek spermasının dondurulmasında daha çok hazır ticari preparatlar (Laiciphos, Biociphos, Biladyl, Triladyl, Andromed, vs) tercih edilmektedir (5).

Gerçektende, Laiciphos, Biociphos ve Tes/Tris'ten oluşan üç farklı sulandırıcı ile dondurulan köpek spermasında çözdüme sonrası sperm motilitesi Laiciphos, Biociphos ve Tes/Tris için sırasıyla %65, %70 ve %50, canlı sperm oranı ise %78, %80 ve %65 olarak bildirilmektedir. Pipes, Bes, Tes, Tris sulandırıcılarına üç değişik potasyumlu tampon ilavesinin (KHCO₃, K₃PO₄, KOH) sperma dondurulması üzerine etkileri incelendiğinde; 1:2 oranında %50 Pipes/KOH + %25 sodyum sitrat + %25 dekstroz + %20 yumurta sarısı + %9 gliserol ile çözdüme sonrası en iyi sperm motilitesi elde edilmiştir (5).

Spermanın sıvı azot buharında dondurulmasında, sperm hücrelerinin soğuk şokundan olumsuz etkilenmeleri nedeniyle spermatolojik özelliklere ait değerler değişebilmektedir (8,10). Hücre membranlarında oluşan perforasyonların, özellikle akrozomda bulunan ve fertilizasyonda görev alan enzimlerin (14) kaybına yol açtığı ve bu durumdaki sperm hücrelerinin dölleme yeteneğini kaybettiği bildirilmektedir (4,8,9,12).

Değişik ve çeşitli oranlarda kryoprotektanları içeren sperma sulandırıcılarının, anılan dondurma aşamalarında sperm hücrelerini soğuk etkisinden korumaları, buldukları ortamdaki madde alışverişini ayarlamaları ve membranların çevresinde oluşan buz kristalizasyonlarının olumsuz etkilerinin en aza indirilmesiyle olduğu bilinmektedir (3).

Seminal plazma, spermatozoon için koruyucu faktörleri içerdiği gibi, hücre duyarlılığını artırıcı faktörleri de bulundurduğundan, ejaküle edilmiş spermadaki sperm hücreleri epididimal spermaya göre soğuk şokuna daha duyarlıdır ve daha fazla olumsuz yönde etkilenmektedir (13).

Köpek spermasının saklanmasında yumurta sarısı, dondurma işlemlerinin zararlı etkilerinden sperm hücrelerini korumak amacıyla bugüne kadar %1-20 oranlarında kullanılmıştır.

Son yıllarda spermanın dondurulması çalışmalarında (6,11) birçok araştırmacı seminal plazma kompanentlerinden biri olan BSA'dan yararlanmış ve membran stabilizatörü olan BSA'nın yumurta sarısının sperm membranları üzerine koruyucu etkisini geliştirdiğini (2), hatta BSA ile kombinasyonu durumunda yumurta sarısı konsantrasyonunun düşürülebileceğini bildirmişlerdir.

Kimi araştırmacılar (7), BSA'yı köpeklerde sperma sulandırmada kryoprotektan etkisinden faydalanmak için %6 (w/v) gibi yüksek oranda kullanırken, kimileri de %5 (w/v) oranında protein desteği olarak faydalanmışlardır. Uysal ve ark. (10) köpek spermasının dondurulması üzerine BSA'nın etkilerini inceledikleri çalışmalarında; BSA ve yumurta sarısının sulandırıcıda tek başına kullanılmalarıyla alınan sonuçlarla karşılaştırıldığında, %10 yumurta sarısı + 10 mg/ml BSA içeren M-Tris sulandırıcısıyla, çözdüme sonrası en yüksek spermatozoa motilitesi (%50,5) ve HOS-test değeri (%58,5)

bulmuşlardır. Dolayısıyla, yumurta sarısı ile BSA kombinasyonunun sinerjik etki oluşturması dolayısıyla spermatozoonları soğuk şokundan daha iyi koruduğunu ifade etmişlerdir. Köpek spermasının dondurulmasında farklı sulandırıcıların etkinliğinin değerlendirilmesinin yanı sıra, dondurma/çözdürme işlemleri esnasında soğuk şokunun sperm hücrelerine verdiği hasarı azaltmak üzere membran stabilizatörü olarak kullanılan BSA'nın (4), çözdürme sonrası kimi spermatolojik parametrelere etkisinin ortaya konulması da amaçlanmıştır.

3.2.2. Köpek Spermasının Dondurulması ve Eritilmesi

Köpek spermasının dondurulması çalışmalarında, başlangıçta ampul yöntemine kıyasla daha çok pellet metodu benimsenmiş ve başarılı gebelik oranları elde edilmiştir. Günümüzde yapılan çalışmalarda ise, sperma 0.25 ml ve 0.5 ml'lik payetler içerisinde dondurulabilmektedir. Köpek spermasının dondurulduktan sonra, 12 yıldan fazla bir süre saklanabildiği ve bu sürenin spermatozoa üzerinde çok az bir fertilitite düşüklüğüne yol açtığı, ayrıca donmuş köpek spermasının eritme sonrası *in vivo* şartlarda, yaşam ömrünün ise ortalama 12 saat kadar olduğu bildirilmektedir (1, 8).

Köpek spermasının dondurulmasında; en sık kullanılan kryoprotektif madde olan gliserolün optimal yoğunluğu %3-4 arasında değişmekle birlikte, kullanılan sulandırıcının tipine göre bu oran farklılık göstermektedir (8, 9). Genelde, çoğu çiftlik hayvanına ait dondurmaya hazır payetler sıvı azot seviyesinin 4 cm yukarısında 5 dakika süreyle bekletilir ve hemen sıvı azot içine daldırılır (7,9).

Köpeklerde spermanın yarı-programlanabilir bir biyolojik dondururucu yardımıyla dondurularak yapılan bir tez çalışmasında, %2 gliserol (v/v) ve %20 yumurta sarısı içeren Tris-fruktoz-sitrik asit sulandırıcısıyla, +4 °C'den -9 °C'ye -0.5 °C/dak., -9

°C'den -20 °C'ye -40 °C/dak., -20 °C'den -120 °C'ye -100 °C/dak. ön soğutma sonrası, spermanın direkt sıvı azot içine daldırılmasıyla başarılı olunmuştur. Bu yolla, az sayıda bireylerle yapılmış olsa da %40-70 arası (çoğunlukla %40-45) bir eritme-sonrası motilite elde edilmiştir (8).

Yapılan bazı çalışmalarda, çok düşük gliserol oranları eritme sonrası yeterli koruyucu etkiyi sağlamada başarısız olurken, çok yüksek gliserol oranları ise akrozom üzerinde hasarlara neden olmaktadır. Ancak, sulandırılmış spermadaki düşük gliserol oranları (%2'ye kadar, v/v) +4 °C'de saklamada *in vitro* akrozom reaksiyonu (AR) yönünden non-fizyolojik bir hasar (14) oluşturmazken, daha yüksek oranlar (%6'ya kadar) fizyolojik AR'yi olumsuz yönde etkilemektedir (8,9). Köpek spermasının pellet formda dondurulması amacıyla, genellikle "%4 gliserollü %11 laktoz ve %20 yumurta sarısı" ya da "%4 gliserollü yağsız süt - glukoz" sulandırıcısı kullanılmaktadır (1, 8). Köpek spermasını payetlerde dondurmada ise genellikle "yumurta sarısı- Tris - fruktoz - sitrik asit tamponlu %3 gliserollü" sulandırıcılar tercih edilmektedir (1). Genel anlamda, eritme sonrası sperm motilitesinin \geq %40, anormal spermatozoa oranının ise \leq %30 olması gerekir (2,9).

Köpek spermasını sulandırmada sıklıkla 1:1- 1:8 oranları (ağırlıkla 1:4 oranı) kullanılmaktadır (8). Bu oranlar, alınan spermadaki spermatozoon yoğunluğuna bağlı olarak değişebilmektedir. Pellet yöntemine göre dondurulan spermanın eritilmesi için ise, ayrıca, dondurma protokolünde kullanılan sulandırıcı ya da serum fizyolojik içeren bir tüpte 37 °C'de 30 saniyede eritilmesi gereklidir (1, 8). Payet yöntemine göre ise; dondurulan köpek spermasının eritilmesi için sıklıkla üç farklı derece ve ısıda su banyosu kullanılmaktadır. Bunlardan ilki 0,25'lik payetler için 37 °C'de 30 saniye (veya 35 °C'de 60 saniye; 8) iken, ikincisi 0,5 ml'lik

payetler için 75 °C'de 6,5 saniye ve 70 °C'de 8 saniyedir (8, 11).

Köpeklerde sperma ml'de 100 milyon doz olacak şekilde sulandırılırken, bir payet başına düşen sperm yoğunluğu ise 25-50 milyon arasındadır (2).

4. KÖPEKLERDE SUNI TOHURLAMA TEKNİKLERİ

Köpeklerde başlıca dört farklı tohumlama tekniği kullanılır (1, 8):

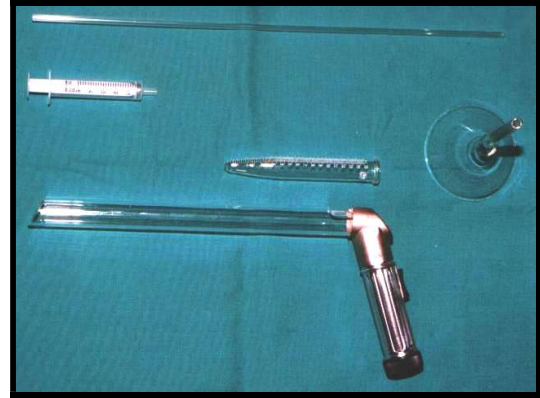
1. Kateterle İnvavaginal,
2. Norveç Kateteriyle İnvavuterin,
3. Endoskopik Yöntemle İnvavuterin,
4. Cerrahi Teknikle İnvavuterin.

4.1. Kateterle İnvavaginal Tohumlama

Uygulanmasının kolay olması ve özel bir alet-ekipman gerektirmemesinden dolayı tercih edilen bir yöntemdir. Köpekler için vaginal tohumlama, plastik bir katater ile vaginal boşluktan bir dirençle karşılaşılıncaya kadar kataterin ilerletilmesi ve spermanın vaginanın cranialine bırakılması şeklinde yapılan bir yöntemdir.

Uygulanışı: Köpek uygun bir yere alınır. Kuyruk yana çekilir ve vulva açığa çıkarılır. Vulva fizyolojik tuzlu su vb. bir sıvı ile dikkatle yıkanır ve güzelce kurulur. Dezenfektanların spermatozoa üzerine toksik etkisinden dolayı, vulvanın yıkanması işlemi için dezenfektan kullanılmamalıdır. Hayvanın arka ayakları hafif ayrılarak yukarı kaldırılır. Yer ile yaklaşık 45-60 derece açı yapması sağlanır. Vagina aralanır ve katater vaginanın dorso-cranial yönünde ilerletilir. Biraz ilerledikten sonra katater yatay hale getirilir. Vaginal bir direnç ile karşılaşılıncaya kadar, yani cervix'in önüne kadar katater ilerletilir ve sperma oraya bırakılır. Spermanın geri akışını engellemek için dişi köpek 15-20 dakika aynı pozisyonda arka ayakları havada olacak şekilde tutulur ve vulva (clitoris) bölgesine masaj yapılır. Tohumlanan köpek yaklaşık 1 saat sakin tutulmalı ve abdomene basınç uygulamamaya da dikkat edilmelidir.

Dişi köpeklerde vajinanın uzun olması, paraservikal bölgede daralma, serviksin ventral açılı olması gibi anatomik nedenlere bağlı olarak serviksi geçerek intrauterin tohumlama yapmak biraz güçtür. Taze ve donmuş sperma ile kolay uygulanabilir olması sebebiyle, invavaginal tohumlama birçok araştırmacı tarafından önerilmiş ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır (8). Yapılan araştırmaların çoğunda, taze sperma ile yapılan invavaginal tohumlamalardaki gebelik oranları oldukça yüksektir. Bu yöntemle (özellikle taze sperma ile) yapılan tohumlamalarda %80 başarı sağlanmaktadır (1).



Şekil 8. İnvavaginal Tohumlama Seti (1).

4.2. Norveç Kateteri ile İnvavuterin Tohumlama

Anılan yöntem, Norveç'li Dr. John Fougner tarafından 1970 yılında tilkilerin intrauterin tohumlanmalarında kullanılan bir katater olarak geliştirilmiştir. Daha sonra, köpeklerde de ilk olarak İskandinav ülkelerinde başarıyla kullanım alanı bulmaya başlamıştır (8). Bu yüzden, bazı kitaplarda İskandinav kateteri olarak anılmaktadır (*Scandinavian stainless steel catheter*).



Şekil 9. İskandinav Çelik Kateterlerin Uçları (1).



Şekil 10: Üç Farklı Boyda Norveç Kateterleri (1).

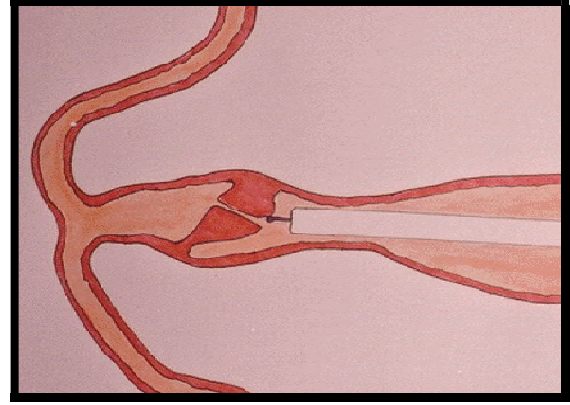
Uygulanışı: Öncelikle, sert plastikten yapılmış ince borucuk vajen içerisine yavaşça sokularak serviksın önüne kadar getirilir.



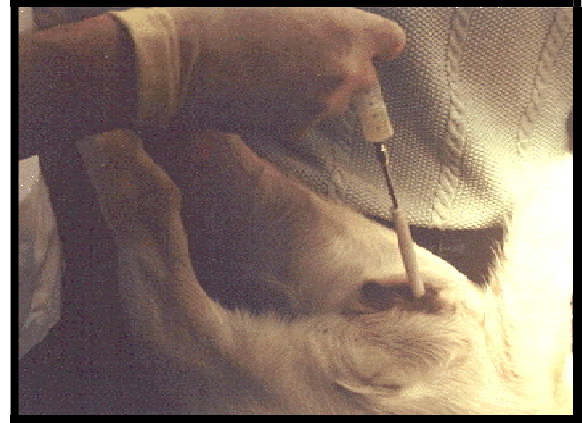
Şekil 11. Sert Plastik Borucuğun Vajenden Serviksın Önüne Kadar İlerletilmesi (1).

Sol el ile abdomenden öncelikle sert plastik çubuğun yeri saptanarak uterusun konumu saptanmaya çalışılır. Ardından, çelik kateter bu kılıfın içerisinden yine yavaşça geçirilir ve kateterin ucu tespit edilerek, serviksın ucu ile karşı

karşıya getirilmesine çalışılır ve yavaşça içeriye sokularak trans-servikal giriş sağlanır. İntrauterin tohumlama sırasında dişi köpeğin arka kısmı havaya kaldırılmalıdır.



Şekil 12: Norveç Kateteri İle Trans-Servikal Suni Tohumlama (1).



Şekil 13. Çelik Kateterin Plastik Borucuğun İçerisinden Geçirilişı ve Spermın Verilmesi (1).

Sperma yavaşça serviksın içerisine geçirilmiş kateterden aktarılır. Norveç kateteri ile trans-servikal tohumlamada, iki adet 0,5 ml'lik payet (her birinde 75 milyon sperm) kullanılmaktadır.

Anılan teknik uzmanlık gerektirmektedir. Buna dişi köpeklerde serviksın hayli dar-kısa oluşu ve duruş-açısının neden olduğu öne sürülmektedir (1).

4.3. Endoskopik Yöntemle İntrauterin Tohumlama

Bu yöntemle tohumlama için tecrübe, zaman ve sabır gerekmektedir. Endoskop cihazına kamera bağlantısı yapılarak, endoskoptan geçirilen kateter

için oldukça kolaylık sağlamaktadır. Bu amaçla, boyu uzatılmış cystourethroscope kullanılmaktadır.

Bu alet, 30 derecelik oblik görüş açısında bir teleskop ve soğuk bir ışık kaynağından oluşmaktadır. Endoskopun çalışma uzunluğu 29 cm'dir. Tohumlama 6 ile 8 numara Fransız idrar kateteri ile gerçekleştirilir.

Bu yöntemin uygulanmasında, hayvanın hareketsizleştirilmesi son derece önem taşımaktadır. Bu amaçla, özel bir hidrolik platform üzerinde bulunan dişi köpeğin, tasmaından bağlandıktan sonra, sağa sola hareketinin ve oturmasının engellenmesi için karın bölgesinden bir bant ile bağlanması da gerekir.

Uygulanışı: Endoskop vajinanın içerisine yerleştirilir ve vajinal duvarın arasından içeriye bakılır. Erken östrus ve proöstrusta; dişi köpeğin vajina duvarı ödemli ve vajina lumenini dolduran durumdadır. Östrusun başlamasıyla birlikte, bu duvar dehidrasyona uğrayarak daha iyi gözlemlenmeye olanak verir. Dorso-median duvarın kaudal çıkıntısı oldukça dardır. Serviksin vajene bakan yüzü, kaudo-ventral ya da ventral yönde olduğundan gözlenemeyebilir.

Anestezi ve sedasyon olmaksızın östrustaki birçok dişi köpek trans-servikal tohumlama sırasında rahatsızlık duymaz. Kateter endoskopun dikkatli manipülasyonu ile servikal kanaldan içeriye ilerletilmelidir. Operatör, spermayı verirken gözleme yaparak spermanın geriye akması halinde durur ve kateterin pozisyonunu değiştirerek yeniden dener. Bazı küçük ırk köpeklerde, serviksin çok dar olması nedeniyle daha küçük çaplı endoskoplar kullanılmalıdır. Doğru zamanda, dişi ve erkek köpeğin fertilitésinin iyi olduğu ve spermanın uterus içerisine verildiği durumlarda gebelik oranı %80'nin üzerindedir (1).

4.4. Cerrahi Teknikle İntrauterin Tohumlama

Bu teknikte, operasyon öncesi hayvan aç bırakılır ve genel anestezi uygulanır. Operasyon bu konuda deneyimli bir Veteriner Hekim tarafından kornu uterilere uygun yerden (median ya da lateral) açılarak yapılır. Tohumlama dozu olarak, donmuş-eritilmiş sperma için 5-10 milyon, taze sperma için ise 2-5 milyon spermatozoa yeterlidir.



Şekil 14. İntrauterin Tohumlamalarda Kullanılan Endoskopi Cihazı (3).

Uygulanışı: Öncelikle, ovaryumlar folliküler ve luteal gelişim yönünden incelenir ve kaydedilir. Operasyonla açığa çıkarılan kornu uterinin orta hattından ve damarsız bir yerinden enjektöre çekilmiş taze ya da donmuş-eritilmiş sperma içeriye verilir. Bu işlem sonrası, hayvana ovulasyonu uyarmak için GnRH'nin yeterli dozda uygulanması gereklidir (1).

5. SONUÇ

Diğer tüm hayvanlarda olduğu gibi, köpeklerde de başarılı bir sperma alma, ön değerlendirme, işleme, dondurma-eritme ve suni tohumlama sonucu elde etmek için; spermanın alınmasından başlayarak suni tohumlama işleminin gerçekleştirilmesi ve sonucunun takibine kadar tüm protokol basamaklarının büyük bir dikkat ve titizlikle yürütülmesi gerekir. Elde edilecek sonuçlarının güvenilirliği için, suni tohumlama sürecinde baştan-sona kadar hem erkek (libido, sperma, genetik, sağlık, vs.) hem de dişi bireyin (östrus, vücut yapısı, sağlık, beslenme-barınma, vs.) kolektif

katkılarının bir 'bütünlük' içerisinde ele alınması zorunludur (9).

Teşekkür

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Alper BARAN'a, zengin kaynak temini ve nazik kullanım izni dolayısıyla içten teşekkürü bir borç biliriz.

KAYNAKLAR

- 1. Baran A. (2015):** Köpeklerde Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama. Ders Notu, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, İstanbul.
- 2. De Leeuw FE, De Leeuw AM, Den Das JH, Colenbrander B, Verkleij AJ (1993):** Effect of various cryoprotective agents and membranes-stabilizing compounds on bull sperm membrane integrity after cooling and freezing. *Cryobiology*, 30, 32-44.
- 3. Moce E, Vicente JS, Lavara R (2003):** Effect of freezing-thawing protocols on the performance of semen from three rabbit lines after artificial insemination. *Theriogenology*, 60, 115-123.
- 4. Müller B, Kircher C (1978):** Influence of seminal plasma proteins on motility of rabbit spermatozoa. *J Reprod Fertil*, 54, 167-172.
- 5. Silva LDM, Verstegen JP (1995):** Comparisons between three different extenders for canine intrauterine insemination with frozen-thawed spermatozoa. *Theriogenology*, 44, 571-579.
- 6. Smith FO (1985):** Cryopreservation of canine semen. Technique and performance. *Diss Abstr Int B-Sci and Engin*, 11, 3441.
- 7. Trimeche A, Anton M, Renard P, Gabdemer, G, Tainturier D (1997):** Quail egg yolk: A novel cryoprotectant for the freeze preservation of poitou jackass sperm. *Cryobiology*, 34, 385-393.
- 8. Uçar Ö. (2000).** Acrosome Reaction and Cryopreservation of Dog Spermatozoa. PhD thesis. Bristol University, Bristol, UK.

9. Uçar, Ö. (2004): Akrozom reaksiyonunun sperma kalitesi, muhafazası ve suni tohumlama başarısındaki rolü. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 10: 117-124 (Derleme).

10. Uysal O, Korkmaz T, Tosun H (2005): Effect of bovine serum albumine on freezing of canine semen. *Indian Vet J*, 82, 97-98.

11. Uysal O, Varışlı Ö, Yavaş İ. Bucak M N, Tosun H (2007): Cryopreservation of canine semen at different freezing/thawing programs. *Indian Vet J*, 84, 54-57.

12. Weitze KF (1981): Tiefgefrierkonservierung von kaninchensperma. 1. bedetung der anzahl intakter spermien für den besamungserflog. *Zuchthygiene*, 16, 212- 218.

13. Weitze KF, Petzoldt R (1992): Preservation of gamets. *Anim Reprod. Sci*, 28, 229-235.

14. Yanagimachi R (1988): Mammalian fertilization. Chapter 5, In: *The Physiology of Reproduction*. 2nd Ed. Knobil E., Neill J. (Eds). pp.189-317. Raven Press Ltd, New York, USA.



Kuzularda Neonatal Mortalite

Uğur AYDOĞDU

Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı TR-58140 Sivas-TÜRKİYE

Geliş Tarihi / Received
10.09.2016

Kabul Tarihi / Accepted
30.12.2016

Yayın Tarihi / Published
31.12.2016

Özet: Kuzularda neonatal dönem doğum sonrası ilk 28 günü kapsayan kritik bir evredir. Neonatal kuzu ölümleri, dünya genelinde koyun yetiştiriciliğinin verim kayıplarını etkileyen önemli bir faktördür. Yeni doğan kuzu ölümlerinin birçok sebebi vardır ve ölümlerin büyük bir kısmı doğum sonrası ilk günlerde gerçekleşmektedir. Kuzu ölümlerine neden olan hastalıkların bilinmesi ve bu konuda koruyucu tedbirlerin alınması ile neonatal dönemde kuzu ölümleri en aza indirilebilir.

Anahtar Sözcükler: Kuzu, neonatal, ölüm

Neonatal Mortality in Lambs

Abstract: Neonatal stage is a critical period, which involves the first 28 days of after parturition. Death of neonatal lambs is an important factor that affects productivity losses of sheep breeding all around the world. There are a number of causes of newborn lambs' deaths, and a significant percentage of lambs deaths occurs in the initial days after parturition. Lambs' deaths can be reduced to a minimal level by being aware of the diseases causing lambs' deaths and by taking protective measures against them.

Keywords: Lamb, neonatal, death

Sorumlu yazar: Uğur AYDOĞDU
Cumhuriyet Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı TR-58140 Sivas-TÜRKİYE
e-mail: uaydogdu@cumhuriyet.edu.tr

GİRİŞ

Kuzularda neonatal dönem yüksek morbidite ve mortalite oranlarının görüldüğü, doğum sonrası ilk 4 haftalık kritik evredir. Yeni doğanlarda hastalıklar ve neonatal mortalite hayvancılık sektöründe ekonomik kayıpların en önemli nedenlerinden biridir. Neonatal dönemde kuzu ölümlerinin önemli bir kısmı doğumdan kısa süre

sonra meydana gelmektedir (4,10,14,15). Gökçe ve ark (14), neonatal ölümlerin %84,6'sının ilk hafta içerisinde olduğunu ifade etmişlerdir. Neonatal dönemde ölümlerin çok sayıda sebebi vardır ve genellikle birden fazla etken bir arada bulunmaktadır (15,26,29). Kuzularda doğum sonrası ilk birkaç gün içerisinde gözlenen ölümlerin %65'ten fazlasının multifaktöriyel

etiyojolojiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ölüm oranları değişiklik göstermekle beraber, iyi yönetilen sürülerde neonatal mortalite oranı %10'un altında hatta bazen %5'ten daha düşük seviyelerdedir (25). Kuzularda neonatal mortalite oranlarının %10-25 arasında değiştiği bildirilmiştir (19). Ülkemizde Kars yöresinde yapılan bir araştırmada, kuzularda neonatal mortalite oranlarının %3,8 (14) diğer bir araştırmada ise %20,8 (13) olduğu bildirilmiştir.

Neonatal kuzularda enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan pek çok sebep ölümlere neden olmaktadır. Kuzu ölümlerine neden olan faktörler, işletme tipi ve yönetim şekline göre değişiklik gösterebilir. Örneğin, kuzu doğumlarının dış ortamda olduğu işletmelerde ölüm sebebi muhtemelen açlık kalma ve açlık iken, kapalı ortamda olduğu işletmelerde enfeksiyöz nedenlerdir (11). Bu derlemede, yeni doğan kuzu ölümlerinin yaygın görülen nedenleri ve bu konuda alınacak koruyucu tedbirler anlatılacaktır.

ENFEKSİYÖZ OLMAYAN NEDENLER

Neonatal kuzu ölümlerinin önemli bir kısmı enfeksiyöz olmayan nedenlere bağlı olarak gerçekteşir (13). Doğum sonrası ilk 2-3 gün içinde meydana gelen kuzu ölümlerinde enfeksiyöz olmayan nedenler önemli rol oynar (8). Kuzularda doğum sonrası hastalıkların ve ölümlerin en önemli nedenleri arasında açlık ve hipotermi/hipoglisemi kompleksi bulunmaktadır (8,25).

Açlık

Doğumdan sonraki ilk birkaç saat içerisinde kuzular kolostrum almazsa vücut enerji kaynakları kritik düzeylere düşmeye başlar. Açlığa bağlı ölümlerde kuzuların %75'i kolostrum almadan öürler. Doğum sonrası, kuzuların ayakta duramamasına yol açan hastalıklar, baş ve boynun düzgün olarak tutulamaması, doğmasal enzootik ataksi ve beyaz kas hastalığı gibi nedenlerle

kuzuların süt emmesi gerçekteşemez. Doğum sonrası kuzu ölümlerinin bir kısmı koyuna bağlıdır. Yeni doğum yapmış koyunların meme enfeksiyonu nedeniyle süt sekresyonunun gerçekteşmemesi, meme loblarının çok büyük, sarkık ve yere yakın olmasından dolayı kuzular emecek meme başı bulamayabilir. Yine mastitis veya yetersiz beslenme nedeniyle iki-üç kuzuyu besleyecek düzeyde süt sekresyonu gerçekteşmeyebilir. Ayrıca güç doğum veya eklem yangısı gibi bir başka hastalık nedeniyle doğum yapmış koyunlar ayakta duramaz. Kuzuda ağız boşluğu enfeksiyonu veya doğmasal anomaliler de süt alımına engel olabilir (8,17). Açlık genellikle doğum sonrası ilk 3 gün içerisinde ortaya çıkmaktadır. Açlığa maruz kalmış kuzuların başları aşağı sarkmış, kulaklar düşmüş ve/veya güçlkle ayakta durduğu gözlenir. Kuzunun karın bölgesi palpe edildiğinde midenin boş olduğu belirlenir. Bir süre sonra kuzuda titreme ve vücut ısısında düşme ortaya çıkar. Aç olan kuzuların tedavisinde; kuzular ememeyecek kadar zayıf ise sonda ile beslenmeli, açlık ve hipotermiye maruz kalmış kuzulara birkaç gün iyi bakım ve besleme yapılmalıdır (5).

Hipotermi-Hipoglisemi Kompleksi

Hipotermi-Hipoglisemi kompleksi, vücut ısısı ve kan glikoz düzeyinin düşmesiyle karakterize bir hastalıktır. Kuzularda doğum sonrası ilk 5 saat içinde düşük ortam ısısı, çoklu doğum, gelişimini tamamlamamış kuzu doğumu, kuzuların ıslak kalması, 12-48 saat içinde kolostrum alamaması veya kuzu emme refleksinin şekillenmemesi gibi nedenlere bağlı olarak hipotermi- hipoglisemi kompleksi gelişir (8).

Yenidoğanların yaşama gücü üzerine çevrenin önemli etkisi vardır. Kuzular soğuğa karşı çok duyarlıdır ve doğum sonrası erken dönemde ölümlerin önemli bir kısmı buna bağlı olarak gerçekteşir. Yeni doğan kuzuların enerji kaynakları; kas ve karaciğer glikojeni, kahverengi yağ dokusu

ve kolostrum/süt tüketimidir (11,25). Kuzuların karaciğer glikojen seviyeleri koyunlarınkine göre 3-5 kat daha yüksektir. Bu rezervler kuzuların ayağa kalkmaları ve anne ile temas kurmaları için yeterlidir. Glikojen ayrıca kaslarda da depo edilmiş durumdadır. Bu enerji rezervleri doğum sonrası kuzunun annesini eminceye kadar geçen süre için yeterli olmaktadır (8).

Düşük doğum ağırlığına sahip kuzularda hipotermiye bağlı ölüm riskinin yüksek canlı ağırlığa sahip kuzulara göre yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir (21). Kuzuların özellikle de ikiz olanların doğum sonrası dönemde termoregülasyonu için kolostrum tüketmesi gereklidir. Kuzular, özellikle yaşamın ilk 5 gününde soğuk stresine karşı daha hassastır. Yeni doğan kuzularda 12 saatten sonra gelişen hipotermi genellikle soğuk stresine bağlı enerji rezervlerinin tükenmesi ile ilgilidir. Bunun üç temel sebebi vardır; birincisi soğuk stresi sonucu hipotermi gelişmesi ve emme gücü kaybına bağlı düşük süt alımı enerji rezervlerinin tükenmesine neden olabilmektedir. İkinci önemli sebep annesiz kalma, üçüncüsü ise doğum hasarıdır. Güç doğum ile ilişkili oksijensiz kalma termoregülasyonu bozarak hipotermiye neden olabilmektedir. Hastalıktan etkilenen kuzular ayakta güçlkle dururlar, baş ve boyun sürekli titremektedir. Vücut ısıları 38 °C'nin altındadır. Kan glikoz seviyesi <80 mg/dl hatta bazen 50 mg/dl'nin altındadır. Kuzularda ısı kaybı ile ilişkili hipoterminin tedavisinde ısı uygulaması gerekli iken, açlığa bağlı gelişen hipotermide ısı uygulamalarına ilave olarak glikoz takviyeleri yapılmalıdır. Korunmada önemli husus kuzunun annesini bulup, takip edip etmediği ve süt emip emmediğinin kontrolüdür. Ayrıca koyunda mastitis olup olmadığı da araştırılmalıdır. Doğum sonrası kuzular iyice kurulanmalı ve ısısı uygun (18-25°C) bir ortama alınmalıdır (8,11,13,25).

Yeni Doğan Kuzularda Solunum Depresyonu

Solunum depresyonu yeni doğan kuzularda ölümlere neden olabilmektedir. Solunum depresyonunun nedenleri premature (sürfaktan yetmezliği) ve güç doğumlar, yavru sularının yutulması, doğmasal anomaliler ve intrauterin enfeksiyonlardır. Etkilenen kuzularda solunum hareketleri azalmış, kalp ve dolaşım bozulmuş, kas tonusu kaybolmuş ve refleksler yerinde değildir. Isı regülasyonu bozulmuş olup, hızla hipotermi-hipoglisemi kompleksi gelişir. Solunum güçlüğü, ayağa kalkmada güçlük, emme refleksinin şekillenmemesi sonucunda kuzular 1-2 gün içinde ölürlür. Tedavide, ağız ve burun boşluğundaki yavru suları aspire edilmelidir. Gerekli durumda suni solunum uygulanabilir ve solunum uyarıcılar verilebilir. Kuzular havadar ortama alınmalı ve emme refleksi yok ise sondayla kolostrum içirilmelidir. Hafif ve orta derece solunum depresyonu gelişenlerde iyileşme oranı %85 düzeyine ulaşırken, ileri derece etkilenen kuzularda prognoz kötüdür (8).

Eksiklik Hastalıkları

Neonatal dönemde enfeksiyöz olmayan kuzu ölümlerinin en önemli nedenlerinden birisi de beyaz kas hastalığıdır. Beyaz kas hastalığı; kuzularda vitamin E ve selenyum eksikliği sonucu iskelet ve kalp kası liflerinin dejenerasyonu ile karakterize, lökomotor bozukluklarla kendini belli eden bir hastalıktır. Bohça (yel) olarak da adlandırılan bu hastalık, 2-6 haftalar arasında yoğun olarak görülür. Anneleri selenyum bakımından eksik yemlerle beslenen kuzularda yaygın olarak görülmektedir. Belirli bölgelerde sürünün %20-30'unu etkileyebilir ve kardiyak formda ölüm %100'e yakındır. Hastalığın kongenital, perakut-akut kardiyak ve subakut iskelet kası olmak üzere üç formu vardır. Konjenital form nadirdir, kuzular ölü doğar veya doğumdan kısa süre sonra ölürlür. Perakut-akut

kardiyak formda, solunum ve kalp vurum sayısında artış, solunum güçlüğü, köpüklü burun akıntısı, lateral yatış ve egzersizden sonra ani ölümler görülür. Subakut iskelet kası formu; ise en sık gözlenen form olup, hayvanların vücut ısısı ve iştahı normaldir. Tutuk yürüyüş, hareket etmede isteksizlik ve kambur duruş görülür. Etkilenen kuzular bir veya iki gün sonra ayağa kalkamaz hale gelir. Subakut iskelet kası formu tedavi sonrası 3-5 günde iyileşebilmektedir. Koruma amaçlı olarak yeni doğan kuzulara selenyum ve vitamin E enjeksiyonu yapılması önerilir (7,9,27).

Diğer bir eksiklik hastalığı da enzootik ataksidir. Hastalık bakır noksanlığına bağlı olarak gelişmektedir (25). Bakır noksanlığı gelişmekte olan fötüs veya yeni doğan kuzular üzerinde merkezi sinir sisteminin gelişmesinde eksiklik ve anemiye neden olur. Hastalığın iki formu vardır. Konjenital (doğmasal) formda kuzular ölü veya zayıf doğarlar ve ayakları üzerinde dikilip annelerini ememezler. Koordinasyon bozukluğu, arka veya ön bacaklar üzerinde dikilmeye çabalama, daha sonra sternal pozisyonda kalma gibi semptomlar görülür. Kuzular emmek ister ancak emme refleksi zayıftır. Hiçbir zaman ayakta durup annesini takip edemez ve 2-3 gün içinde ölürlür. Gecikmiş form ise süt emme dönemindeki 1-2 aylık kuzularda görülür. Arka bacaklar koordine edilemez. Kuzularda köpek oturuşu pozisyonu alma, arka bacaklar üzerine çökme, göğüs üstü yatma, toprak yalama gibi semptomlar görülür ve kuzular 3-4 hafta içinde ölürlür. Hastalığın tedavi ve korunmasında toprak bakır düzeyi düşük olan bölgelerde meralara bakır bileşenlerinin uygulanması gereklidir. Sinir sistemi bozuklukları görülen hayvanlar genellikle tedaviye olumlu cevap vermezler. Hafif etkilenmiş kuzularda oral veya paranteral bakır uygulamaları ve iyi bakım koşullarının sağlanması ile tedavide olumlu sonuçlar alınabilmektedir. Kuzularda

doğmasal bakır eksikliğinden korunmak için gebe koyunlara bakır uygulamaları yapılmalıdır (8,30). Ayrıca iyot, kobalt ve A vitamini noksanlığı bulunan koyunlardan doğan kuzularda emmeye isteksizlik, zayıf/cılız kuzu doğumları ve yüksek oranda ölümler görülebilmektedir (8,30).

ENFEKSİYÖZ NEDENLER

Neonatal dönemde ölümlerin önemli bir kısmını enfeksiyöz nedenler oluşturmaktadır. Neonatal dönemde yaygın görülen enfeksiyöz hastalıklar; sulu ağız hastalığı, ishal, pnömoni ve göbük kordonu enfeksiyonlarıdır. Neonatal enfeksiyonların yaygınlığı incelendiğinde; Yeni Zelanda ve Avustralya da total ölümlerin %30'undan fazlası, İskoçya da ise %18'inden fazlasını neonatal enfeksiyonlar oluşturmaktadır (26). Yeni doğan kuzularda enfeksiyöz hastalıklar yeterli oranda kolostrum tüketmemiş (pasif transfer yetmezliği bulunan) kuzularda daha sık gözlenir. Bunun nedeni; kuzuları doğum sonrası enfeksiyonlara karşı koruyacak antikorlar anne karnındayken yavruya geçemez. Antikorların kuzuya aktarılması kolostrum vasıtasıyla olmaktadır. Bu yüzden yeni doğan kuzuların kaliteli kolostrumdan yeterli miktarda (yaklaşık vücut ağırlığının %10'u kadar) tüketmeleri gerekmektedir. Uygun miktar ve kalitede kolostrum tüketmemiş kuzular pasif transfer yetmezliğine bağlı olarak neonatal dönemde enfeksiyonlara duyarlı hale gelirler. Yapılan araştırmalarda pasif transfer yetmezliği bulunan kuzularda neonatal mortalite oranlarının yüksek olduğu bildirilmektedir (2,11).

Sulu Ağız Hastalığı

Sulu ağız hastalığı, entansif yetiştiricilik yapılan işletmelerde yaşamın ilk birkaç gününde görülen bir durumdur. Bir sürüde %30'lara varan morbidite ve %80'i aşan mortalite görülebilir (16). *Escherichia coli*'nin neden olduğu bu hastalık halk arasında ıslak ağız olarak adlandırılır. Yeni doğan

kuzularda; uyuşukluk, memeyi bulamama, emmede isteksizlik, salivasyon artışı, abdominal dilatasyon (karında genişleme) ve mekonyumun atılmaması gibi semptomlarla karakterizedir. Doğum sonrası ağız yoluyla alınan etkenler bağırsaklarda kolonize olup çoğalırlar. Hastalık, ölen bakterilerin hücre duvarlarından açığa çıkan toksinler sebebiyle ortaya çıkmaktadır. Özellikle ikiz ya da üçüz kuzularda yetersiz kolostrum alımına bağılı olarak gelişen pasif transfer yetmezlik hastalığı yatkinlik oluşturmaktadır. Hijyen koşulları kötü olan işletmeler yüksek risk altındadır. Doğduklarında normal görülen kuzular 12-24 saat sonra durgun, depresif ve emmeye isteksizdirler. Hasta kuzular ağılın bir köşesinde yatar ve genellikle ayağa kalkmazlar. Kuzularda 2-6 saat içerisinde hastalığı özgü salya artışı olur ve salyanın alt çeneden sarktığı görülür. Hayvanlar süt emmediğı halde karında gerginlik vardır ve kuzu hafifçe sallandığında sıvı sesi duyulabilir. Kısa süre içerisinde genel durum kötüleşerek hipotermi, koma ve ölüm görülür. Hastalığın spesifik bir tedavisi yoktur. Parantral/oral antibiyotik, yangı gidericiler ile birlikte 50-100 ml elektrolit ve %5-10 glikoz solüsyonu sonda ile içirilmelidir. Hastalıkta koruyucu tedbirler önemlidir. İşletmenin hijyen şartlarına dikkat edilmeli enfektif çevre ve materyaller dezenfekte edilmelidir. Tüm kuzulara doğum sonrası 3-6 saat içerisinde 50-100 ml/kg dozunda kolostrum içirilmelidir. Kolostrum almayan kuzularda iki saat içerisinde tek doz oral antibiyotik uygulamalarının neonatal ölüm ve hastalıklara karşı etkili koruma sağladığı belirtilmektedir. Ancak antibiyotik direnci nedeniyle, oral antibiyotik uygulaması yalnızca yüksek riskli işletmelerde yapılmalıdır (7,27).

İshal

Gastrointestinal sistemin enfeksiyöz hastalıkları kuzu ölümlerinin önemli nedenlerinden birisidir. Bağırsak hastalıkları çoğunlukla ishal ile ortaya

çıkır. İshal kuzularda verim kaybı ve ölümün yanı sıra, tedavi masraflarına bağılı ekonomik kayıplara neden olur. Kuzulama dönemi genellikle kış ve ilkbahar başlangıcına denk geldiğinden yağış, rüzgar gibi olumsuz koşullar bu hastalıkların çok görülmesine sebebiyet verir (31). Sharif ve ark (29), kuzu ve oğlaklarda neonatal mortalitenin yaklaşık %60'ının ishale bağılı olarak şekillendiğini bildirmişlerdir. Gökçe ve ark (15), neonatal dönem boyunca görülen en yaygın problemin %15,43 ile ishaller olduğunu ifade etmişlerdir.

Kuzu ishallerine değışik etkenler (bakteri, virus ve protozoa) neden olmaktadır. Etkenlerin yaygınlığı coğrafik olarak değışiklik göstermesine karşın, en yaygın gözlenen etkenler *E. coli*, *Rotavirus*, *Coronavirus* ve *Cryptosporidium parvum*'dur. Yeni doğan ishallerinde genellikle birden çok etken bir arada bulunmaktadır (16).

Bakteriyel nedenler

E.coli ishale neden olan en önemli bakteriyel etkidir. *E.coli*'nin birkaç serotipindeki suşları (başlıca K 99, F 41 antijenleri) ishale sebep olmaktadır. Genellikle 1 haftalıktan küçük yeni doğan kuzularda enterotoksijenik enteritise yol açarak sulu diyare, dehidrasyon, halsizlik ve ölüme neden olmaktadır. Entertoksijenik *E.coli* ishali kuzuların %35'inden fazlasında izole edilebilmektedir. Ölüm oranları %75'e kadar çıkabilmektedir. Perakut olaylarda toksemik şok sonucu ani ölümler görülebilir. İshalle seyreden formunda hasta kuzularda sulu açık sarı, beyazımtırak ve kötü kokulu ishal belirlenmektedir. Koyunlar gebeliğın son döneminde 4 hafta arayla iki kez aşılandığında, kuzuların *E.coli*'ye karşı önemli oranda korunduğı tespit edilmiştir (7,31).

Bazı salmonella suşları (*S. typhimurium* ve *S. dublin*) kuzu ishallerine neden olmaktadır. Bu gibi hastalıklar hayvanların direncini olumsuz etkileyen düşük hijyen koşullarında ortaya çıkar. En ciddi

bulgular 1 haftalıktan küçük kuzularda görülür. Genç kuzularda dizanterinin başlamasıyla beraber hızlı dehidrasyon, toksemi, agonal septisemi ve ölüm görülür. Etkilenen kuzular oldukça zayıflamıştır, abdominal ağrı belirtileri ve sıklıkla ıkınma görülür. Rektal ısı başlangıçta yüksektir, belirtilerin şiddeti arttıkça beden ısısı normalin altına düşer. Hastalığa karşı pratikte yer etmiş bir aşı uygulaması yoktur. Stres oluşturan bakım, beslenme ve yönetim hatalarının asgariye indirilmesi tavsiye edilir. Dışkının yem ve suları kontamine etmesi önlenmelidir (3,27).

Clostridium perfringens enfeksiyonu, 2 haftalıktan küçük kuzularda enteretoksemiye neden olur. Hastalığın klinik süresi, çoğunlukla birkaç saati geçmez. Kuzuda emme refleksi yoktur, abdominal ağrı vardır, kısa süre içerisinde kollapsa girer ve ölüm şekillenir. Dışkı yarı sulu ve kanlıdır. Postmortal muayenede, peritoneal boşlukta, seröz tabiatta ve bazen kanlı sıvı birikir. Bağırsaklar koyu kırmızı renkte olup, yer yer ülserasyonlar dikkat çeker. Teşhis konulduğunda koruyucu önlemler hemen alınmalıdır. Korunmada, yeteri kadar kolostrum içirilmeli, gebe hayvanlar hastalığa karşı aşılmalıdır (3,31).

Viral nedenler

Rotavirus, kuzularda en sık görülen viral ishal sebebidir. Rotavirus A ve B gruplarını içerir ancak grup A en yaygın görülen ve klinik açıdan en önemli olanıdır. Rotavirus ince bağırsakların villileri üzerindeki olgun absorptif ve enzim üreten enterositlerinde çoğalır. Kuzu rotavirus enfeksiyonları, ince bağırsak epitelyum hücrelerinde yıkımlanma ve atrofiye neden olarak malabsorptif ishale yol açar (16, 31). Kuzularda rotavirusların değişen oranlarda (%2,1-48,6) ishale neden olduğu rapor edilmiştir (18,20,32). Kars yöresinde yapılan bir araştırmada, ishalleri kuzu dışkılarında corona ve rotavirus oranlarının sırasıyla %21,4 ve %5,3 olduğu bildirilmiştir (15).

Ayrıca ishalleri kuzuların dışkılarında astrovirusların da tespit edildiği bildirilmiş ve deneysel çalışmalar ile kuzularda ishale neden olduğu belirlenmiştir (31).

Protozoal nedenler

Cryptosporidium parvum, kuzu ishallerinde en yaygın gözlenen protozoal enfeksiyondur ve dünya genelinde yüksek prevalansa sahiptir. Yeni doğan kuzular potansiyel risk taşımaktadır ve belirgin tür spesifitesinin olmaması, zoonotik özellik göstermesi nedeniyle hastalığı ayrıca önemli kılmaktadır. Kuzular için enfeksiyon kaynağı enfekte çevre, kontamine gıda veya suyun tüketilmesidir (24). Enfeksiyonda yaş oldukça önemli bir faktördür. Doğal enfekte kuzularda *Cryptosporidium* ookistlerinin atılımının 4. günde başladığı, 7. günde en yüksek seviyeye ulaştığı, 3. haftadan sonra ise azaldığı belirtilmektedir. *Cryptosporidiosis* enfeksiyonunun spesifik bir tedavisi yoktur. Son yıllarda halofuginon laktat ve paromomisin sülfat ile tedavilerinden iyi sonuçlar alındığı bildirilmektedir. Hastalığa karşı etkili bir tedavi olmaması nedeniyle koruyucu tedbirlerin alınması gereklidir. Bu anlamda; aynı yaş gruplarındaki hayvanlar bir arada bulundurulmalı, iyi kalitede ve yeterli miktarda kolostrum verilmesine dikkat edilmeli, hasta hayvanlar sağlıklılarından ayrılmalı, temiz ve kuru çevre şartları sağlanmalı, çevre dezenfekte edilmeli, ekipmanlar günlük olarak temizlenmelidir. *Cryptosporidium* ookistleri dış çevre şartlarına oldukça dirençlidir. Ookistler yaklaşık olarak 15-20°C'de 3 ay, 4-6°C bir yıl hayatta kalabilmektedir. Birçok dezenfektan normal dozlarda etkisizdir. Amonyak (%5-10), %3 hidrojen peroksit ve %10 formol kistlere karşı etkili olmaktadır (22,24). Gökçe ve ark (15), neonatal ishalleri kuzularda *Cryptosporidium parvum* oranının %21,1 olduğunu tespit etmişlerdir. Sırbistan'da neonatal dönemde ishal gözlenen kuzuların yaklaşık %32'sinde

Cryptosporidium parvum tespit edildiği belirtilmiştir (35).

Kuzu ishallerine neden olan diğer bir protozoal enfeksiyon giardiazis'tir. Enfeksiyon 2-4 haftalık kuzular ile sınırlı kalmamaktadır. İshal genellikle geçicidir ancak enfekte hayvanlar klinik olarak normal görünmelerine karşın birkaç hafta kadar kist saçmaya devam edebilirler. Hastalık kronik mukoid ishalle karakterizedir. Enfekte hayvanlar fenbendazol ile etkili şekilde tedavi edilebilirler (22).

Pnömoni

Kuzularda neonatal pnömoni, enfeksiyöz olmayan nedenler ve ishalden sonra üçüncü önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Pnömonili kuzularda *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *E. coli* gibi bakteriyel etkenlerin yanı sıra, viral etkenler de tespit edilmiştir. Pek çok yeni doğan kuzu enfeksiyöz etkenlere maruz kalır, ancak kolostrum vasıtasıyla enfeksiyonların kontrolüne yardımcı olan antikörler alındığı için hastalık gelişmemektedir. Yetersiz kolostrum alımı ve beslenme, kalabalık barındırma ve uygun olamayan havalandırma (amonyak birikimi), tozlu ve nemli yataklık, güç doğuma bağlı zayıflık ve diğer stres yaratan durumlar pnömoni oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Etkilenen hayvanlarda yüksek ateş, öksürük ve burun akıntısının yanı sıra, bazen de akut ve ani ölümler görülebilmektedir (5,12,23). Yapılan bir araştırmada, Kars yöresinde neonatal dönemde pnömoni morbidite ve mortalitesinin oranları sırasıyla %4,4 ve %0,4 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada pnömoni vakalarının neonatal dönemin son haftasında daha sık (%58,3) görüldüğü bildirilmiştir (12). Diğer bir araştırmada kuzu ve oğlaklarda neonatal mortalitenin %13,3 oranda pnömoniye bağlı olduğu belirtilmiştir (29).

Omfalitis

Bakteriyel kökenli göbek yangıları doğum sonrası ilk birkaç gün içinde gelişerek ya ekstraumbilikal ya da intraabdominal yayılım gösterir. Genel olarak göbek kordonunun yangısına omphalitis denilmektedir. Omphalitis; omfalitis flegmonoza ve omfalitis gangrenosa olmak üzere iki farklı görünüme sahiptir (33).

Omfaloflebitis ve Omfaloarteritis

Göbek kordonunu oluşturan v. umbilicalisin yangısı omfaloflebitis, a. umbilicalisin yangısı ise omfaloarteritis olarak tanımlanır. Her iki şekilde de yangı damarların periferik kısmından başlayarak yayılma gösterir (33). Omfaloflebitis daha çok hijyenik şartların yeterli olmadığı, göbek bakımının yapılmadığı, sağlıksız kondisyona sahip sürülerde yeni doğmuş kuzularda görülür. Olumsuz hava şartlarında ve erkek kuzularda daha sık görülmektedir. Bunun nedeni muhtemelen ürinyasyon nedeniyle umbilikusun kurumaması ve uygulanan topikal astringen ve/veya antibiyotiğin buradan akmasıdır. Umbilikal enfeksiyonlar lokal kalabildiği gibi, karın duvarında apseleşme, lokal veya generalize peritonitis, urakhal enfeksiyon ile karaciğer apselerine neden olabilirler. Septik peritonitis gelişen hayvanlar zayıflamış ve durgundur, arka ayaklar bükülmüş ve kuzunun başı aşağı doğru uzamıştır. Karın boşluğunda eksudat birikimi vardır. Çoğu zaman yerde yatarlar, etkilenen hayvanlarda hızlı dehidrasyon gelişir ve birkaç gün içinde ölüm görülür. Septik peritonisli hayvanların tedavisi umutsuzdur. Lokalize fibrinöz peritonitiste peritoneal lezyonlar fibrin parçaları içerir ve bu bölgelerde yapışmalara neden olarak bağırsaklarda vaziyet değişikliğine, tıkanmalara ve/veya daralmalara neden olabilir. Hepatik nekrobasiloziste ise klinik tablo karaciğerdeki lezyonların sayısı, yerleşimi ve boyutuna göre değişir. Etkilenen kuzular tipik olarak 10-14 günlüktür ve depresiftirler. Yaşıtlarına göre kötü durumda ve zayıftırlar. Duvar

dibi ve çalılık aralarında saklanırlar. Sırt kambur ve dört ayak birbirine çok yakındır. Hepatik nekrobasillozis erken dönemde tespit edilirse antibiyotik tedavisiyle tedavi edilebilir. Omfaloflebitise karşı koruyucu tedbirler alınmalı, doğan kuzularda göbek kordonu doğum sonrası 15. dk ve 2-4 saat sonra iki defa iyotlu solüsyonlara batırılmalıdır. Ayrıca sürüde hijyen şartlarına dikkat edilmelidir (27).

Diğer Enfeksiyöz Nedenler

Neonatal kuzu ölümleri bazı enfeksiyöz hastalıkların seyri sırasında da gerçekleşebilir. Şap hastalığı yeni doğan kuzularda miyokarditise (6) bağlı ölümlere neden olabilmektedir. Ayrıca koyun-keçi vebası (1, 34), koyun çiçeği (28) hastalıkları erişkinlerden ziyade yeni doğan kuzularda yüksek oranda ölümlere neden olabilmektedir.

SONUÇ

Neonatal dönemde kuzu ölümlerini etkileyen birçok neden bulunmaktadır. İşletme tipi ve yönetimi, kuzunun doğum ağırlığı, annenin yaşı, kuzulama mevsimi gibi faktörlerin kuzu ölümleri üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Neonatal dönemde özellikle de hastalık çıkan sürülerde koruyucu tedbirlerin alınmasıyla yeni doğan kuzu ölüm oranları en aza indirilebilir. Bu doğrultuda, gebelik döneminde koyunların bakım ve beslenmesine dikkat edilmeli, *Clostridium spp*, *E. coli* ve *rotavirus* gibi yaygın gözlenen hastalıklara karşı aşılama yapılmalıdır. Yeni doğan kuzulara mutlaka yeterli miktarda ve kalitede kolostrum verilmeli, göbek kordonu dezenfeksiyonuna dikkat edilmeli, aynı yaş grubundaki hayvanların bir arada bulunması sağlanmalı, hastalık tespit edilen hayvanlar mümkün olan en kısa sürede sağlıklılardan ayrı bölmelere alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1. Abd El-Rahim IH, Sharawi SS, Barakat MR, El-Nahas EM. (2010):** An outbreak of peste des petits ruminants in migratory flocks of sheep and goats in Egypt in 2006. *Rev Sci Tech*, 29(3):655-62.
- 2. Ahmad R, Khan A, Javed MT, Hussain I. (2000):** The level of immunoglobulins in relation to neonatal lamb mortality in Pak-Karakul sheep. *Veterinarski Arhiv*, 70 (3):129-139.
- 3. Aksoy G. (2006):** Bağırsak hastalıkları. In, Gül Y (Ed): Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları. 2. Baskı, 95-113, Medipress, Malatya.
- 4. Andres S, Jimenez A, Sanchez J, Alonso JM, Gomeza L, Lopez F, Rey J. (2007):** Evaluation of some etiological factors predisposing to diarrhoea in lambs in "La Serena" (Southwest Spain). *Small Rumin Res*, 70: 272-275.
- 5. Aragaw K. (2015):** Prevention of Lamb and kid mortality. http://www.esgpip.org/pdf/Technical_Bulletin_46.pdf. Erişim Tarihi: 11.01.2015.
- 6. Aslani MR, Mohri M, Movassaghi AR. (2013):** Serum troponin I as an indicator of myocarditis in lambs affected with foot and mouth disease. *Veterinary Research Forum*, 4 (1): 59 – 62.
- 7. Batmaz H. (2013):** Koyun ve Keçilerin İç Hastalıkları. 1. Baskı, Alemdar Ofset, İstanbul.
- 8. Bilal T. (2007):** Yeni Doğanların İç Hastalıkları. 1. Baskı, 292-433, İstanbul Üniversitesi yayınevi, İstanbul.
- 9. Bülbül T. (2013):** Beslenme Hastalıkları. In, Elmas M (Ed): Koyun-Keçi El kitabı. 1. Baskı, 451-503, Özhür Ofset, Konya.
- 10. Dennis SM. (1970):** Perinatal lamb mortality in a purebred Southdown flock. *J Anim Sci* 31: 76-79.
- 11. Dwyer CM. (2008):** The welfare of the neonatal lamb. *Small Ruminant Research* ,76: 31–41.

12. **Gökçe E, Erdoğan HM. (2008):** Neonatal Kuzularda Pnömoni: Yaygınlığı ve Etki Eden Kimi Risk Faktörleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 14 (2): 223-228.
13. **Gökçe E, Erdoğan HM. (2009):** An epidemiological study on neonatal lamb health. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (2): 225-236.
14. **Gökçe E, Kırmızıgül AH, Erdoğan HM, Çitil M. (2013):** Risk factors associated with passive immunity, health, birth weight and growth performance in lambs: I. effect of parity, dam's health, birth weight, gender, type of birth and lambing season on morbidity and mortality. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19 (Suppl-A): A153-A160.
15. **Gökçe E, Ünver A, Erdoğan HM. (2010):** İshalli neonatal kuzularda enterik patojenlerin belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (5): 717-722.
16. **Gruenberg W. (2015):** Intestinal Diseases in Sheep and Goats. http://www.merckmanuals.com/vet/digestive_system/intestinal_diseases_in_ruminants/intestinal_diseases_in_sheep_and_goats.html. Erişim Tarihi: 28.01.2015.
17. **Hancock RD, Coe AJ, Conde de Albite Silva F. (1996):** Perinatal mortality in lambs in southern brazil. *Tropo Anita Hlth Prod*, 28: 266-272.
18. **Kaminjolo JS, Adesiyun AA. (1994):** Rotavirus infection in calves, piglets, lambs and goat kids in Trinidad. *Br Vet J*, 150: 293-9.
19. **Mellor DJ, Stafford KJ. (2004):** Animal welfare implications of neonatal mortality and morbidity in farm animals. *The Veterinary Journal*, 168: 118-133.
20. **Munoz-Fernandez M, Alvarez M, Lanza I, Carmanes P. (1996):** Role of enteric pathogens in the aethiology of neonatal diarrhoea in lambs and goat kids in Spain. *Epidemiol Infect*, 117:203-211.
21. **Nash ML, Hungerford LL, Nash TG, Zinn GM. (1996):** Risk factors for perinatal and postnatal mortality in lambs. *Vet Rec*, 39: 64-67.
22. **Navarre CB, Baird AN, Pugh DG. (2012):** Diseases of the gastrointestinal system. In, Pugh DG, Baird AN (Ed): *Sheep and Goat Medicine*. 2th ed, 71-105, Saunders, Missouri.
23. **Oruç E. (2006):** The Pathologic and bacteriologic comparison of pneumonia in lambs. *Turk J Vet Anim Sci*, 30: 593-599.
24. **Paraud C, Chartier C. (2012):** Cryptosporidiosis in small ruminants. *Small Rumin Res*, 103: 93- 97.
25. **Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, PD Constable. (2007):** *Veterinary Medicine*. 10th ed. Salinders.
26. **Scott PR. (2001):** Health and Production Management in Sheep Flocks. In, Radostits OM (Ed): *Herd Health Food Animal Production Medicine*. 3th ed, 765-844, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
27. **Scott PR. (2007):** *Sheep Medicine*. 1th ed, 83-98, Manson Publishing Ltd, London.
28. **Selvaraju G. (2014):** Epidemiological Measures of Disease Frequency Against Sheep Pox. *IJSR*, 3(8):461-462.
29. **Sharif L, Obeidat J, Al-Ani F. (2005):** Risk factors for lamb and kid mortality in sheep and goat farms in Jordan. *Bulg J Vet Med*, 8 (2): 99-108.
30. **Stevenson H. (2014):** Conditions of neonatal lambs. *Livestock*, 19(1): 41-46.
31. **Turgut K, Ok M. (1997):** Veteriner Gastroenteroloji. 2. Baskı, 285-422, Bahçivanlar, Konya.
32. **Wani SA, Bhat MA, Samanta I, Ishaq SM, Ashrafi MA, Buchh AS. (2004):** Epidemiology of diarrhoea caused by rotavirus and Escherichia coli in lambs in Kashmir valley, India. *Small Rumin Res*, 52: 145-153.

33. Yurdakul İ. (2016): Kuzu ve Oğlaklarda Göbek Kordonu Enfeksiyonuna Bağlı Komplikasyonlar. *Cumhuriyet Üniv. Sağ. Bil. Enst. Derg.* 1: 39-44.

34. Zewdie S. (2015): Peste des Petits Ruminants.

<http://www.esgpip.org/pdf/Technical%20Bulletin%20No.20.pdf>, Erişim Tarihi: 28.01.2015

35. Zorana M, Sofija K, Kulisic Z. (2006): Cryptosporidium infection in lambs and goat kids in serbia. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 56(1): 49-54.



Kangal Irkı Köpeklerin Spermalarının Kriyoprezervasyonunda Sığır Serum Albüminin Etkisi*

Alper KOÇYİĞİT¹ Barış Atalay USLU¹

¹Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Sivas

Geliş Tarihi / Received	Kabul Tarihi / Accepted	Yayın Tarihi / Published
08.11.2016	28.12.2016	31.12.2016

Özet: Ülkemizin zenginliklerinden biri olan ve üstün özellikler barındıran Türk Çoban Köpeği Kangal (Karabaş), dünyanın en eski ve en yaygın doğal çoban köpeği ırkıdır. Fakat gerek evcilleştirmenin etkisi gerekse bilinçsiz, kontrolsüz çiftleştirmeler sebebiyle kangal köpekleri sahip olduğu üstün özellikler açısından risk altındadır. Ayrıca venereal (çiftleşme ile bulaşan) hastalıklar, damızlık köpekler için sürekli tehdit oluşturmaktadır. Bu gibi özel türler gamet, embriyo, hücre ya da DNA'ları dondurularak koruma altına alınabilmek ve kontrollü olarak yavru almak mümkündür. Köpek spermalarının dondurularak saklanması çeşitli yöntemler ve protokoller üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Çalışmada Kangal ırkı köpeklerden alınan spermalar iki farklı sulandırıcı ile sulandırılmış ve dondurulmuştur. Çözüm sonu motilite oranları açısından BSA ile desteklenen sulandırıcı ile daha yüksek değerler tespit edilmiştir (%45 ve %55). Sonuç olarak Kangal Köpeği spermasının dondurulmasında Tris-yumurta sarısı bazlı sulandırıcılara BSA ilavesi yapılmasının suni tohumlama uygulamaları sonrası fertilitte oranlarına olumlu etki edebileceği değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kangal Köpeği, Kriyoprezervasyon, Sulandırıcı, Motilite

The Effect of Bovine Serum Albumin in the Cryopreservation of Kangal Dogs Sperm

Abstract: The Kangal dog significant richness of our country within region of Sivas is under risk at venereal diseases and unconscious mating. Animal genetic resources in-situ and ex-situ methods can be protected using. Ex-situ methods; animals outside the environment in which they live, to keep these animals or gametes, embryos, is to protect the cells or DNA. The protection of specific species such as stud Kangal dogs, possible by cryopreservation. The sperms from Kangal dogs were diluted and frozen with two different diluents in the study. Higher values were determined by the diluent supplemented with BSA in terms of the post-thawing sperm motility (%45 and %55). As a result, it is evaluated that the addition of BSA to Tris-egg yolk-based extenders in freezing of Kangal dog semen can positively affect the fertility rates after artificial insemination.

Key words: Kangal dog, Cryopreservation, Extender, Motility

Sorumlu yazar Alper KOÇYİĞİT,
Cumhuriyet Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Sivas
e-mail: vhalper@gmail.com

*Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından V-027 proje numarası ile desteklenmiştir.

1. GİRİŞ

Ülkemizin zenginliklerinden biri olan ve üstün özellikler barındıran Türk çoban köpeği Kangal (Karabaş), dünyanın en eski ve en yaygın doğal çoban köpeği ırkıdır. Fakat gerek evcilleştirmenin etkisi gerekse bilinçsiz, kontrolsüz çiftleştirmeler sebebiyle kangal köpekleri sahip olduğu üstün özellikler açısından risk altındadır. Ayrıca venereal hastalıklar, damızlık köpekler için sürekli tehdit oluşturmaktadır (11). Köpek yetiştiriciliğinde venereal hastalıklarının önlenmesi, genetik yapılarının iyileştirilmesi, üstün damızlık niteliklere sahip köpeklerden en yüksek ölçüde yararlanılabilmesi ve gen kaynaklarının korunması büyük önem taşır. Bu noktada biyoteknolojik bir yöntem olan suni tohumlama uygulaması ön plana çıkmaktadır (8). Köpeklerde dondurulmuş sperma ile yapılan suni tohumlama sonrası ilk canlı yavru 1954 yılında elde edilmiştir (5). Bu tarihten günümüze kadar pek çok araştırmacı suni tohumlama uygulamalarında başarılı sonuçlar kaydetmiştir (2,22,23,24). Günümüzde başta Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere Kanada ve pek çok Avrupa ülkesinde köpek spermasının dondurulması endüstri haline gelmiştir. Bu ülkelerde çeşitli sperm bankaları kurulmuştur.

Köpeklerde suni tohumlama amacıyla taze sperma ya da dondurulmuş sperma kullanılabilir. Dondurulmuş sperma suni tohumlama uygulamalarında yaygın olarak kullanılmasına rağmen, taze sperma ile yapılan tohumlamadaki başarı şansı daha yüksektir. Bu sebeple fertilité oranlarının yükseltilmesi yönünde çalışmalar devam etmektedir (10).

Köpeklerde suni tohumlama uygulamasının başarılı olabilmesi için uygun şekilde dondurulmuş spermanın kullanılması şarttır. Spermanın dondurulması işleminde ise pek çok faktör başarıyı etkilemektedir. Bu faktörleri sulandırıcı seçimi, spermatozoon yoğunluğu, kryoprotektif ajanlar,

dondurma ve çözme yöntemi olarak sıralamak mümkündür (9, 16).

Günümüzde köpek spermasının kısa süreli ya da dondurularak uzun süreli saklanması amacıyla sperma sulandırıcısı olarak çeşitli solüsyonlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında Tes (N-Tris [hydroxymethyl] methyl-2 aminomethene sulfonic acid), Hepes (N-2 [hydroxymethyl] piperazine-n-2-ethane sulfonic acid) ve Pipes (piperazine-N, N-bis-2-ethane sulfonic acid) gibi tristen daha iyi buffer kapasitesine sahip solüsyonlar kullanılmakla beraber, son yıllarda köpek spermasının dondurulmasında daha çok hazır ticari preparatlar (Laiciphos, Biociphos, Biladyl, Triladyl, CaniplusFreeze) tercih edilmektedir (16). Köpek spermasının sulandırılmasının yanı sıra dondurma işlemindeki soğuk şoku hasarlarından da korunması gerekmektedir. Bu amaçla sulandırıcıya çeşitli kryoprotektif ajanlar ilave edilmektedir (12). Kryoprotektif ajan olarak yumurta sarısı dondurma işlemlerinin zararlı etkilerinden spermatozoayı koruması amacıyla köpek spermasının saklanmasında %1-20 oranları arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (4). Son yıllarda ise seminal plazma komponentlerinden biri olan Bovine Serum Albumine (BSA) membran stabilizatörü olarak sulandırıcılara ilave edilmektedir (4,21).

Bu çalışma ile kangal köpeği spermasının dondurulmasında farklı sulandırıcı kompozisyonlarının etkinliğinin değerlendirilmesi ve çözme sonrası spermatolojik parametrelere etkisinin ortaya koyulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Çalışmadaki hayvan muayene ve denemeleri Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'nun 19.02.2015 tarihli ve 8 sayılı kararı doğrultusunda yürütülmüştür. Çalışmanın hayvan materyali Cumhuriyet Üniversitesi Kangal Köpeği Araştırma ve Yetiştirme Merkezi'nde

bulunan Kangal ırkı erkek köpekler arasından seçilmiştir. Merkezde bulunan köpekler damızlık özellikler açısından incelenerek sağlıklı, ırka ait fenotipik özellikleri taşıyan ve damızlık nitelikte olan iki adet köpek deneye dâhil edilmiştir. Çalışma için seçilen köpekler aynı bakım besleme şartlarına tabi tutulmuştur.

Sperma Alma Uygulaması

Çalışmada kullanılan hayvanlardan sperma elde edilmesi için penis masajı (onanı) yöntemi uygulanmıştır (18). Bu yöntemle alıştırma için köpeklerden hayvan hastanesinde özel olarak ayrılan muayene salonunda östrus periyodunda bulunan dişi köpek ile seksüel stimülasyon sağlanarak üç gün ara ile haftada iki kez sperma alınmıştır. Bu şekilde en az bir ay süreyle yöntemle alıştırılan köpeklerden daha sonra çalışma için aynı sıklıkta sperma alınmaya devam edilmiştir. Çalışmada beş hafta süreyle her köpektan 10'ar olmak üzere toplamda 20 ejakulat kullanılmıştır.

Spermatolojik Muayene

Çalışmada spermalar hem dondurma öncesinde hem çözdüme sonrasında muayene edilmiştir. Nativ sperma, sperma miktarı (ml), spermatozoa motilitesi (%), spermatozoa yoğunluğu ($\times 10^6$), anormal spermatozoa oranı (%), ölü spermatozoa oranı (%), spermanın pH değeri ve yönüyle muayene edilmiştir (Tekin 1994). Çözdüme sonrası muayenesinde ise; spermatozoa motilitesi (%), spermatozoa yoğunluğu ($\times 10^6$), anormal spermatozoa oranı (%), ölü spermatozoa oranı (%) belirlenmiştir.

Spermaların Dondurulması

Elde edilen spermalardan motilitesi %80 ve üzerinde olan, anormal oranı %10'u geçmeyen nitelikte olanlar dondurulma işlemine alınmıştır. Dondurma işlemi için her köpeğin sperması iki eşit kısma bölünerek birinci kısım her payette 200×10^6 motil spermatozoa bulanacak şekilde Tris-Yumurta sarısı solüsyonu ile ikinci kısım ise Tris-

Yumurta Sarısı-BSA sulandırıcısı ile sulandırılmıştır.

Kontrol grubunda sulandırıcı olarak Tris sulandırıcısı %20 oranında yumurta sarısı ile kombine edilmiştir. Deneme grubunda ise %20 yumurta sarısı yerine %10 yumurta sarısı + 10 mg/ml BSA bileşimi kullanılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Tris – Yumurta sarısı bazlı sulandırıcının içeriği

İçerik	Miktar
Tris	2,9 g
Fruktoz	1,25 g
Sitrik asit	1,32 g
Gliserol	8,0 ml
Yumurta sarısı	%20
Distile su	100,0 ml

Spermalar sulandırıldıktan hemen sonra 0,5 ml'lik payetlere çekilip açık olan uçları ısı yardımıyla kapatılmıştır. Sonrasında buzdolabına (+4 °C) yerleştirilmiş ve 1,5 saat ekilibrasyona bırakılmıştır. Ekilibrasyon süresi sonunda payetler, sıvı azot seviyesinden 4 cm yükseklikte (-120 °C) 10 dakikada dondurulmuş ve -196 °C'deki sıvı azotta saklanmıştır. Spermaların bulunduğu payetler 37 °C'deki su banyosunda 30 saniyede çözdümlenerek spermatolojik muayeneye tabi tutulmuştur. Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizi için Student-T test yöntemi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Çalışma sonunda fenotipik olarak ırk özelliklerini yansıtan 2 Kangal köpeğine ait 40 doz (0,5ml'lik) sperma dondurulmuştur. Köpeklerden alınan nativ spermaların motilite oranları sırasıyla %70 ve %75 olarak bulunmuştur. Nativ spermadaki anormal spermatozoon oranı ise sırasıyla %9,2 ve %8,9 olarak tespit edilmiştir. Taze spermada belirlenen spermatolojik parametreler istatistiksel farklılık göstermemekle birlikte Tablo 2'de sunulmuştur ($P>0.05$).

Tablo 2. Taze spermada belirlenen spermatolojik özellikler

Köpek	Hacim (ml)	Motilite (%)	Yoğunluk ($\times 10^6$)	Anormal oranı (%)	ph
1	2,2	75	317,2	9,2	6,6
2	1,9	70	265,5	8,9	6,5

Çalışmada çözüm sonu motilite oranları sırasıyla %45 ve %55 olarak belirlenmiştir. Çözüm sonu anormal spermatozoon oranı ise sırasıyla %18,8 ve %13,4 olarak tespit edilmiştir. Çözüm sonrası motilite ve anormal spermatozoon oranı açısından kontrol grubuna oranla deneme grubunda önemli derecede yüksek sonuçlar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Çalışmada sulandırma sonrası ve çözündürme sonrası belirlenen spermatolojik parametreler Tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. Çözüm sonu spermatolojik değerler (%)

Sulandırıcı	Motilite	Anormal spermatozoa oranı	Ölü spermatozoa oranı
Kontrol	45	18,8	35,1
Deneme grubu	55	13,4	22,3

4. TARTIŞMA

Köpek spermasının dondurulmasında bugüne kadar krebs-ringer, sodyum sitrat, laktoz, süt gibi solüsyonlar kullanılmış olmakla beraber, son yıllarda yoğun olarak Tris, Tes, Bes, Hepes, Mes, Pipes, Mops gibi zwitterionic bufferlar dışında köpek sperması, Laiciphos, Biociphos, Biladyl ve CaniplusFreeze gibi ticari preparatlarla da uzun süreli saklanabilmektedir (7,13). Dondurma işlemi spermatozoonlar üzerinde birçok olumsuz etkiye yol açabilmektedir. Bunlardan biri de membran bütünlüğünün bozulmasıdır. Spermatozoa motilitesi spermatozoanın buldukları ortamda madde alışverişleri, yani membranlarından madde transportuyla yakından ilişkilidir. Dolayısıyla

membranları sağlam spermatozoanın motil olduğundan söz edilebilir. Çalışmada, Tris-yumurta sarısı ile dondurulmuş spermalardan elde edilen çözüm sonu spermatozoa motilitesi (%45) Tris-Yumurta sarısı-BSA ile dondurulanlardan (%55) önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu çalışmada, dondurulmuş spermalardan elde edilen çözündürme sonrası spermatozoa motilitesi, Daşkın ve ark.'larının bulduğu değerden (%62,5) düşük bulunmuştur (3).

Köpek spermasının dondurulması üzerine çalışan bir diğer araştırmacı ise laiciphos, biociphos ve tes /tris'ten oluşan üç farklı sulandırıcı ile dondurdukları köpek spermalarının çözündürme sonrası spermatozoa motilitesini laiciphos, biociphos ve tes/tris için sırasıyla %65, 70 ve 50 canlı spermatozoa oranını ise %78, 80 ve 65 saptadıklarını bildirmiştir (16).

Pipes, bes, tes, tris sulandırıcılarına üç değişik potasyumlu tampon ilavelerinin köpek spermasının dondurulması üzerine etkilerini inceleyen araştırmacılar, 1/2 oranında %50 Pipes/KOH + %25 sodyum sitrat + %25 dekstroz + %20 yumurta sarısı + %9 gliserol ile çözündürme sonrası en iyi spermatozoa motilitesi elde etmişlerdir (17).

Yumurta sarısı ve BSA spermayı soğuk şokuna karşı koruyarak kriyoprotektan etki göstermektedir (14,20). Bir çalışmada sulandırıcıya membran stabilizatörü olarak BSA eklenmesinin spermatozoa üzerine olumlu etkisi olduğunu bildirilmiştir (1). Ayrıca BSA'nın en önemli özelliklerinden biri de spermanın dondurulması işlemi sırasında antioksidan özelliği ile oksidatif reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan serbest radikalleri elimine etmesi yanında soğuk şokunun zararlı etkilerinden spermatozoayı korumasıdır (6,15).

Kimi araştırmacılar kriyoprotektif etkisinden faydalanmak için %6 (w/v) gibi yüksek miktarda

BSA'yı köpek spermasının sulandırılmasında kullanırken, kimileri de (2, 10) %5 (w/v) oranında protein desteği olarak faydalanmışlardır (4,20).

Köpek spermasının dondurulması üzerine BSA'nın etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada, BSA'nın ve yumurta sarısının sulandırıcıda tek başına kullanılmalarıyla ulaşılan sonuçlarla karşılaştırıldığında, %10 yumurta sarısı + 10 mg/ml BSA içeren Tris sulandırıcısıyla, çözdürme sonrası en yüksek spermatozoa motilitesi (%50,5) elde ettiklerini, yumurta sarısı BSA kombinasyonunun sinerjik etki oluşturduğu ve soğuk şokundan spermatozoayı daha iyi koruduğunu ifade edilmiştir (19,21).

Yapılan çalışmada literatür verilerine paralel olarak BSA ile kombine edilen Tris-yumurta sarısı sulandırıcısı ile daha iyi çözüm sonu spermatozoa değerlere ulaşılabileceği belirlenmiştir. Bununla birlikte her iki sulandırıcıyla elde edilen çözdürme sonrası anormal spermatozoa oranlarının fertilitiyi olumsuz etkileyecek düzeylere (%20) ulaşmadığı gözlenmiştir.

Yapılan araştırmalarla sunulan çalışmada elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar çeşitli etmenlere bağlı olarak şekillenmiş olabilir. Özellikle kullanılan hayvanların bakım besleme ve ırk farklılıkları, sulandırıcı kompozisyonları ve dondurma çözdürme prosedürlerindeki farklılıklar spermatozoa parametrelerine etki etmektedir.

Çalışmadan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, kangal köpeği spermasının dondurulmasında tris-yumurta sarısı-BSA bazlı sulandırıcı ile BSA içermeyen gruba oranla daha yüksek çözüm sonu spermatozoa değerler elde edildiği, BSA'nın yumurta sarısı ile kombine edilmesi durumunda, spermatozoa motilitesini geliştirdiği ve spermatozoa anormal oranını azalttığı tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- 1. Blesbois E, Caffin JP. (1992):** Serum like albumin of fowl seminal plasma and effects of albumin on fowl spermatozoa stored at 4 °C. *British Poultry Science*, 33, 663-670.
- 2. Concannon PW, Battista M. (1989):** Canine semen freezing and artificial insemination. *Current Veterinary Therapy*. 1247-1259.
- 3. Daşkın A, Tekin N, Akçay E. (2003):** Köpeklerde transservikal - intrauterin ve intravaginal tohumlama yön-temlerinin dölverimine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary And Animal Sciences*, 27, 235-239.
- 4. De Leeuw FE, De Leeuw AM, Den Das JH, Colenbrander B, Verkleij AJ. (1993):** Effect of various cryoprotective agents and membranstabilizing compounds on bull sperm membrane integrity after cooling and freezing. *Cryobiology*, 30, 32-44
- 5. England GC. (1992):** Cryopreservation of dog semen: a review. *Journal of reproduction and fertility. Supp.* 47: 243-255.
- 6. Funahashi H, Cantley TC, Stumpf TT, Terlouw SI, Day BN. (1994):** Use of low salt culture medium for in vitro maturation of porcine oocytes is associated with elevated oocytes glutathione levels and enhanced male pronuclear formation after in vitro fertilization. *Biology of Reproduction*, 51, 633-639.
- 7. Hermansson U, Forsberg CL. (2006):** Freezing of stored, chilled dog spermatozoa. *Theriogenology*. 65(3): 584-593.
- 8. Hiemstra SJ. (2003):** Guidelines for the constiution of national cryopreservation programmes for farm animals (FAO).
- 9. Hunter RHF. (1980):** Physiology and technology of reproduction in female domestic animals. Academic Press, Edinburgh, UK.
- 10. Linde-Forsberg C, Forsberg M. (1989):** Fertility in dogs in relation to semen quality and

the time and site of insemination with fresh and frozen semen. *Journal of Reproduction and Fertility*, 299-310.

11.Mamak N. (2002): Sivas yöresindeki kangal köpeği üretim çiftliklerinde bulunan köpeklerde bazı enfeksiyöz ve paraziter hastalıkların (leptospirozis, listeriozis, dirofilariasis, barsak parazitleri) araştırılması ve sağaltımı. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

12.Moce E, Vicente JS, Lavara R. (2003): Effect of freezing-thawing protocols on the performance of semen from three rabbit lines after artificial insemination. *Theriogenology*, 60, 115-123.

13.Morton DB, Bruce SG. (1989): Semen evaluation, cryopreservation and factors relevant to the use of frozen semen in dogs. *Journal of Reproduction Fertility*, 39, 311-316.

14.Müller B, Kircher C. (1978): Influence of seminal plasma proteins on motility of rabbit spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54, 167-172

15.Risopatron J, Catalan S, Miska W, Schell WB, Sanchez, R. (2002): Effect of albumine and polyvinly alcohol on the vitality, motility and acrosomal integrity of canine spermatozoa incubated in vitro. *Reproduction Domestic Animals*, 37, 347-351.

16.Silva LDM, Verstegen JP. (1995): Comparisons between three different extenders for canine intrauterine insemination with frozen-thawed spermatozoa. *Theriogenology*, 44(4), 571-579.

17.Smith FO, Graham, EF. (1984): Cryopreservation of canine semen: technique and performance. In 10. international congress on animal reproduction and artificial insemination, University of Illinois USA.

18.Tekin N, İzgür H, Özyurt M. (1987): Köpeklerde penis masajı yöntemiyle sperma alma

ve başlıca spermatolojik özellikler üzerinde araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1: 83-95.

19.Tosun H, Uysal O. (2007): Köpek spermasının dondurulmasında farklı sulandırıcıların ve bireylerin etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 54:23-28.

20.Trimeche A, Anton M, Renard P, Gabdemer, G, Tainturier D. (1997): Quail egg yolk: A novel cryoprotectant for the freeze preservation of poitou jackass sperm. *Cryobiology*, 34, 385-393.

21.Uysal O, Korkmaz T, Tosun H. (2005): Effect of bovine serum albumine on freezing of canine semen. *Indian Veterinary Journal*, 82, 97-98.

22.Uysal O, Varish O, Tosun H, Yavas I, Gurcan I. (2007): Cryopreservation of canine semen at different freezing and thawing programmes. *Indian veterinary journal*, 84(1): 57-59.

23.Watson PF. Artificial insemination and the preservation of semen. *Marshall's Physiology of Reproduction*, 2, 747-869, 1990.

24.Yurdaydın N, Kotzab E. (1987): Köpek spermasının dondurulması üzerinde araştırmalar. Ankara Üniveersitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 34 (3): 534-540.



Van İl'inde 2010-2011 Yılı Tüberküloz İnsidansını Etkileyen Faktörler

Leyla MİS¹

Remzi KARASUNGUR²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Kampüsü, Van, Türkiye

²Baykan Devlet Hastanesi/Sağlık Bakanlığı, Siirt, Türkiye.

Geliş Tarihi / Received
09.10.2016

Kabul Tarihi / Accepted
22.12.2016

Yayın Tarihi / Published
31.12.2016

Özet: Bu çalışmada, Van'da Tüberküloz (Tbc) insidansını ve buna etki eden faktörleri incelemek ve yapılacak iyileştirmeler için fikir oluşturmak amaçlanmıştır. Çalışmada verem savaş dispanserlerinin Tbc bildiriminde kullandıkları standart aylık formlar 2010-2011 yılları arasında retrospektif olarak incelendi. 2010-2011 yıllarının ortalama Tbc insidansı 12.8'dir. Bu dönemde 267 Tbc hastası saptandı. Hastaların 131 (%49,1)'i akciğer, 130 (%48,7)'si akciğer dışı ve 6 (%2,2)'si hem akciğer hem de akciğer dışı, Akciğer Tbc'lilerin 93 (%71,0)'i yayma pozitif olarak tespit edildi. Çalışmamızda tüberküloz hastalarının çoğu (%43)'ü 15-34 yaş grubu genç hastalardandır. Tbc insidansımız 2010 yılında yüksek bulundu. Bunda, şehrin kötü sosyoekonomik faktörlerinin rol oynadığı düşünöldü. Tüm bu verilerin tüberküloz ile savaşta yapılacak yeni düzenlemelere yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz. Doğrudan gözetim altında tedavi stratejisi ile tedavi süreci mutlaka takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, insidans, sosyoekonomik faktörler.

Between 2010 and 2011, Factors Affecting Incidence of Tuberculosis in Van

Abstract: In this study, we have purposed to determine the incidence of Tuberculosis (Tbc) and the factors affect it, Van and to constitute an idea for innovation. Standard monthly data forms used for informing of Tbc in tuberculosis control dispensary are investigated retrospectively among 2010-2011. The mean incidence of yearly Tbc is 12.8 and pulmonary Tbc is 131 (49,1%). In this period, have been determined 267 new Tbc patients; 131 (49,1%) are pulmonary Tbc and 130 (48,7%) extrapulmonary Tbc. 93 (71,0%) of pulmonary Tbc are smear positive. The most of tuberculosis patients (43%) were adult young between age of 15 to 34. Tbc incidence was higher in 2010. It was considered that bad socioeconomic factors have been playing a major role. We conclude that this type studies may be help to struggle with tuberculosis in our country. The treatment process should be pursued by directly observed treatment strategy.

Key Words: Tuberculosis, incidence, socioeconomic factors.

Sorumlu yazar: Leyla MİS
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Kampüsü, Van, Türkiye
e-mail: leylaaslan23@hotmail.com

1. GİRİŞ

Tüberküloz (Tbc), çok bulaşıcı ve kısa inkübasyon dönemli viral hastalıkların aksine uzun inkübasyon devri olan ve minimal enfeksiyöz bir hastalıktır. Üç yüz milyon yıldan beri soyunu sürdüren verem basili, doğanın her yerinde, örneğin sular, otlaklarda, toprakta, çamurda havada bulunur (29). Tbc basilinın genomu açığa çıktıktan sonra anlaşılmıştır ki, M. tuberculosis, M. bovis'ten mutasyon sonucu gelişen bir bakteri değil, fakat her iki bakteri de ortak bir atadan mutasyonlarla farklılaşmış iki türdür (11). Tüberküloz basilleri 0,3-0,6 ile 1,4 mikron boyutlarında, düz veya hafif eğri çomaklardır. Tek tek veya birkaçı bir arada

bulunurlar (20). Non-motil, spor oluşturmeyen çomaklardır. Aerobiktirler, ortamın oksijen konsantrasyonunda azalma çoğalmalarında yavaşlamaya neden olur (15). Tüberküloz hastalığının teşhisi için balgam, idrar, mide sıvısı, BOS, plevra ve periton sıvısı gibi vücut örnekleri kullanılabilir. Alınan doku biyopsilerinde tüberküloza özgü değişikliklerin incelenmesiyle de tanı konulabilir. Tüberküloz hastalığının tedavisinde ilaç kullanımı çok önemlidir. Ayrıca tedaviye destek amacıyla hastanın beslenmesine dikkat etmesi, bağışıklık sistemini güçlendirmesi ve iyi dinlenmesi gerekmektedir.

Tablo 1. Türkiye'de Tbc hastalarının tedavi sonuçları, 1999 ve 2006 kohortları (3).

	Yeni olgular		Tedavi görmüş olgular	
	1999	2006	1999	2006
Hasta sayısı	17.222	18.236	1.658	1.951
Tedavi başarısı, (%)	79	91	66	76
Tedavi terk, (%)	12	4	23	10
Tedavi başarısızlığı, (%)	2	0	3	1
Nakil giden, (%)	4	0	3	0
Ölüm (%)	2	3	4	5
Tedavisi devam eden, (%)	0	2	0	8
Yayma (+) sayısı	5.830	7.865	690	1.262
Yayma (+)'lerde kür, (%)	30	58	27	36

Günümüzde tüberküloz (Tbc) insidansının düşük olduğu batı toplumlarında bu hastalıktan korkulmasının temel nedeni bulaşma şeklidir. İlaçlara dirençli Tbc korkutucudur. Özellikle çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-Tbc), tedavisinin zorluğu ve sorunları nedeniyle ciddi bir enfeksiyondur (17).

Türkiye'de tüberküloz ile ilgili hasta bilgilerinin kaynağı verem savaşı dispanseri kayıtlarıdır. Bunun dışında genel ölüm kayıtları bir bilgi kaynağıdır. Önemli bir bilgi kaynağı da yapılan araştırmaların sonuçlarıdır.

Bu çalışmada, Van ilinde 2010-2011 yılındaki tüberküloz insidansını ve bunu etkileyen faktörleri belirlemek amaçlanmıştır. Çalışma sonunda elde

edilen veriler, hastalığın korunmasında ve tedavisinde hekimlere, hastalara ve hasta yakınlarına fikir verecek olması bakımından önem taşımaktadır.

2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada Van Verem Savaş Dispanserinde (VSD) 2010-2011 yıllarında tespit edilen ve kayıt altına alınan farklı yaş ve farklı cinsiyetteki hastalar kullanıldı. Çalışmada kullanılan hastaların kayıt formlarındaki bilgilerin, cinsiyet, yaş, olgu tanımı, hastalığın yeri, histopatoloji, tanıda bakteriyolojik tetkikler, tedavi sonucu ve yorumu (nakil gelen, nakil giden ve başka hastalık) değerlendirildi. VSD bakteriyolojik tetkiklerinde,

VSD olgularında; ferdi (septomlu) muayene, temaslı muayenesi, organize toplum taraması ve sağlık raporu değerlendirilmesi sırasında saptanmaktadır. Akciğer Tbc olgularının tanısı VSD'lerde bakteriyolojik olarak konmakta ve hastanelerde bakteriyolojik veya histopatolojik olarak tanısı konulan olguların takipleri yapılmaktadır.

İstatistik analiz

Bulgular üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler arasındaki ilişkileri belirlemede Ki- kare testi ve çoklu uyum analizi

yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Van'da 2010-2011 yılında Verem Savaş Dispanserine kayıtlı 267 tüberküloz hastası vardır. Bu hastalardan 226 yeni, 36 hasta nakil gelen ve 5 hastada nüks'tür. Hastaların 122 (%45.7)'si kadın ve 145 (%54.3)'i ise erkektir. Tablo 2'de Van'da 2010-2011 yılında tüberküloz hastalarının yaş guruplarına ve cinsiyete göre dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 2. Van'da 2010-2011 yılında Tbc olgularının yaş guruplarına ve cinsiyete göre dağılımı.

Yaş gurubu	Cinsiyet				Toplam	
	Erkek		Kadın			
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
0-4	3	30.0	7	70.0	10	3.7
5-14	19	63.3	11	36.7	30	11.2
15-34	67	58.3	48	41.7	115	43.1
35-49	24	43.6	31	56.4	55	20.6
50-64	16	50.0	16	50.0	32	12.0
65+	16	64.0	9	36.0	25	8.23
Toplam	145	54.3	122	45.7	267	100

Tablo 3. Van'da 2010-2011 yılında Tbc olgularında cinsiyete göre hastalığın tutulum yerinin dağılımı.

Cinsiyet	Hastalığın tutulum yeri						Toplam	
	Akciğer		Akciğer dışı		AC+AC dışı			
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Erkek	78	59.5	62	47.7	5	83.3	145	54.3
Kadın	53	40.5	68	52.3	1	16.7	122	45.7
Toplam	131	49.1	130	48.7	6	2.2	267	100

Tüberküloz olgularının yaş guruplarına göre hastalığın tutulum yerinin dağılımı tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Van'da 2010- 2011 Tbc olgularında yaş guruplarına göre hastalığın tutulum yerinin dağılımı.

Yaş gurubu	Hastalığın tutulum yeri						Toplam	
	Akciğer		Akciğer dışı		AC+AC dışı			
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
0-4	9	90.0	1	10.0	0	0.0	10	3.7
5-14	21	70.0	9	30.0	0	0.0	30	11.2
15-34	49	42.6	62	53.9	4	3.5	115	43.1
35-49	19	34.5	35	63.6	1	1.8	55	20.6
50-64	18	56.3	14	43.8	0	0.0	32	13.5
65+	15	60.0	9	36.0	1	4.0	25	9.4
Toplam	131	49.1	130	48.7	6	2.2	267	100

Tablo 3'de görüldüğü üzere tüberküloz hastalarının 131 (%49.1)'i akciğer, 130 (%48.7)'u akciğer dışı ve 6 (%2.2)'si da akciğer + akciğer dışıdır. Akciğer tüberkülozu olan hastaların 78 (%59.5)'i erkek, 53 (%40.5)'ü kadındır. Akciğer dışı tüberkülozu olan hastaların 62 (%47.7)'si erkek, 68 (%52.3)'i kadındır. Akciğer+ Akciğer dışı tüberkülozu olan hastaların 5 (%83.3)'i erkek, 1 (%16.7)'i kadındır.

Akciğer tüberkülozu olan hastaların 93 (%71.0)'ü balgamda ARB pozitif çıkmış, hastaların 38 (%29.0)'i balgamda ARB bakıldığı halde negatif

çıkmış ve bakteriyolojik yöntemlerin dışında tanı konulmuştur.

Tablo 5'de görüldüğü üzere akciğer dışı tüberküloz hastalarının 47 (%34.0)'si lenfadenit bu hastaların, 17'si erkek, 30'u kadındır. Hastaların 23 (%16.6)'ü Tbc plörözi bu hastaların, 17'si erkek, 6'sı kadındır. Hastaların 7 (%5.5)'si Tbc menenjit bu hastaların, 4'ü erkek, 3'ü kadındır. Hastaların 7 (%5.5)'si Tbc miliyer bu hastaların, 5'i erkek, 2'si kadındır. Geriye kalan 53 (%38.4)'ü diğer tüberkülozlardır, bu hastalarında 25'i erkek, 28'i kadın olarak tespit edildi.

Tablo 5. Van'da 2010-2011 yılında akciğer dışı tüberkülozda tutulan organlara ve cinsiyete göre dağılımı.

Tutulan organ	Cinsiyet				Toplam	
	Erkek		Kadın		Sayı	Yüzde
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde		
Lenfadenit	17	36.2	30	63.8	47	34.0
Plörözi	17	73.9	6	16.1	23	16.6
Menenjit	4	57.1	3	42.9	7	5.5
Miliyer	5	71.4	2	28.6	7	5.5
Diğer Tbc	25	47.1	29	52.9	53	38.4
Toplam	68	49.3	70	50.7	138	100

Tablo 6. Van'da 2010-2011 yılında tüberkülozlu hastaların cinsiyet ve tedavi sonuçları

Sonuç	Cinsiyet				Toplam	
	Erkek		Kadın		Sayı	Yüzde
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde		
Tedavisi biten	95	52.1	87	47.9	182	68.1
Terk	4	57.1	3	42.9	7	2.6
Başka hastalık	9	60.0	6	40.0	15	5.7
KÜR	17	56.6	13	43.4	30	11.3
Vefat	8	57.1	6	42.9	14	5.2
Tedavisi devam eden	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Nakil giden	12	63.1	7	36.9	19	7.1
Toplam	145	54.3	122	45.7	267	100

Van'da 2010-2011 döneminde bulunan tüberküloz hastalarının 182 (%68.1)'si tedavisini tamamlamış, 19 (%7.1)'u nakil gitmiş, 14 (%5.2)'ü vefat etmiş, 15 (%5.7)'i başka hastalıktan gönderilmiş, 30 (%11.3)'ü kür, 7 (%2.6)'si terk etmiş, tedavisi devam eden hasta yok ve tedavi başarı oranı %80 olarak bulundu (Tablo 6).Çalışmada Van İl'inin 7 yıllık tüberküloz insidansı hesaplandı (Tablo 7).

Buna göre ortalama yıllık olgu sayısı 156 ve ortalama Tbc insidansı 100.000'de 15.50 olarak bulundu. Bu yedi yılda Van'a bakıldığında inişli çıkışlı bir grafik izlemiştir. Ama yedi yılın hepsinde Van'ın tüberküloz insidansı Türkiye'nin tüberküloz insidansından düşüktür.

Van ilinde olguların sağlık güvencesine bakıldığında 134 (%50.2)'ü yeşil kartlı, 66

(%24.7)'sı SSK'lı, 13 (%4.9)'ü Bağ-Kur'lu, 13 (%4.9)'ü Emekli sandığı, 6 (%2.2)'sının herhangi

bir güvencesi yoktur ve 35 (%13.1)'inde kaydına ulaşamadı (Tablo 9).

Tablo 7. Van İl'inde yıllara göre tüberküloz insidansı.

Yıllar	Olgu sayısı	Tbc insidansı (100.000'de)
2005	162	16.4
2006	188	18.4
2007	164	16.7
2008	179	17.8
2009	138	13.5
2010	156	15
2011	111	10.7
Ortalama	156	15.5

Van'da tüberküloz insidansını etkileyen diğer faktörler de incelenmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. Van İl'inin sosyo-ekonomik verileri.

Demografik göstergeler	Van	Türkiye geneli sıralaması
Sosyoekonomik gelişmişlik sıralaması	76	76
Kişi başı gelir (yıllık)	6672	77
Ortalama hane halkı büyüklüğü (kişi)	7.53	9
İşsizlik oranı (%)	17.2	79
100.000 Kişiye düşen uzman hekim sayısı	55.462	39
100.000 Kişiye düşen pratisyen hekim sayısı	34.627	74
Okur -yazar nüfus Oranı (%)	87.9	77
Şehirleşme oranı (%)	52.1	68

Tablo 9. Van'da 2010-2011 yılında tüberkülozlu hastaların cinsiyet-sağlık güvencesi sonuçları.

Sonuç	Cinsiyet				Toplam	
	Erkek		Kadın		Sayı	Yüzde
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde		
Yeşil kart	75	56.0	59	44.0	134	50.2
S.S.K	37	56.1	29	43.9	66	24.7
Bağkur	7	53.8	6	46.2	13	4.9
Emekli sandığı	6	46.2	7	53.8	13	4.9
Güvence yok	3	50.0	3	50.0	6	2.2
Kayıt yok	17	48.6	18	51.4	35	13.1
Toplam	145	54.3	122	45.7	267	100

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tüberküloz, medikososyal bir sorundur. Tüberküloz'un sıklığını ve prognozunu sosyo-ekonomik düzey, beslenme durumu, hastalığın algılanış şekli, sağlık olanaklarına ulaşabilme ve davranış şekilleri gibi faktörler etkileyebilmektedir (19).

Ülkemizde Tbc hastalığının bölgelere göre dağılımı bazı bilgiler vermektedir. Verem savaşı dispanserlerinde kayıtlı hastaların nüfusa

oranlandığında Tbc vakaları en fazla Marmara ve Karadeniz Bölgelerinde görülmektedir. En düşük bölge ise İç Anadolu ve Akdeniz Bölgeleri'dir. İllere göre incelendiğinde de bu bölgelerdeki illerin genel olarak benzer insidanslara rastlanılmaktadır. Marmara Bölgesinde sadece İstanbul'da değil, tüm Trakya Bursa ve Çanakkale'de de insidansın yüksek olduğu görülmektedir. İç Anadolu'da da insidans düşüklüğü yaygın bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum ile ilgili bazı

düşünceler ortaya atılmaktadır. Bunlardan birisi, yüzyıldır bu bölgelerdeki durumun benzer farklılıkları zaten taşıdığı yönündedir. Diğer bir düşünce, bölgesel Tbc kontrolünde değişik uygulamaların olabilmesidir. Başka bir görüş ise, yüksek insidanslı bölgelerin göç aldığıdır. Nüfus yoğunluğunun da bir etken olabileceği düşünülmektedir (3).

Türkiye’de geçmişte bakteriyolojik incelemeler yeterince yapılamamıştır. Dispanserlerden aylık bildirimlerle iletilen veriler Sağlık Bakanlığı’nda toplandığında akciğer Tbc’lilerin %27.5’inde yayma pozitif iken, aynı dispanser verileri tek tek hasta dosyalarından yeniden toplandığında %43.5’e çıkmıştır. VSD verilerinin bireysel olarak toplanması ile daha gerçekçi rakamlara ulaşılmıştır. Son yıllardaki bakteriyolojik tanı ile 2005, 2006 ve 2007 kohortunda, akciğer Tbc’lilerin yayma pozitif olanları sırasıyla %57, %62 ve %64 bulunmuştur (5). Mikroskopik tetkikte son yıllarda önemli bir artış sağlanmıştır.

Tüberküloz hastalarını ağırlıklı olarak erkeklerin oluşturduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu durum erkeklerin sosyal olarak daha aktif olmalarından kaynaklanabileceği gibi kadınların tanınma sürecine ulaşmalarında ki zorluklar sebebi ile de olabilir (10,28). Yapılan bu çalışmada, Tüberküloz olgularında cinsiyete göre hastalığın tutulum yerinin dağılımına bakıldığında en fazla akciğerde görülmüş ve erkeklerin bayanlara oranla daha fazla akciğer tüberkülozuna yakalandığı tespit edilmiştir.

Türkiye genelinde Tbc hastalarının %63’ü erkek hastalardır. Erkeklerde hastalığın en yüksek oranda görüldüğü iller Kırklareli (%83) ve Edirne’dir (%80); en az görüldüğü iller ise Tunceli (%40) ve Hakkâri’dir (%42). Yeni olguların tümünde erkeklerin oranı %62 iken tedavi görmüş hastalarda erkeklerin oranı %75’dir. Hem yeni, hem de tedavi görmüş olguların erkeklerde fazla

olduğu fakat önceden tedavi görenlerdeki erkek oranının daha fazla olduğu bildirilmiştir. Akciğer ve akciğer dışı hastalarda cinsiyet durumu incelendiğinde akciğer Tbc’li hastaların %70’i erkek iken, akciğer dışı olguların %46’sı erkektir. Yani, akciğer tüberkülozunun erkeklerde çok fazla görüldüğü, akciğer dışı tüberkülozun ise kadınlarda biraz daha fazla görüldüğü anlaşılmaktadır (3).

Akciğer dışı Tbc olgularının cinsiyet durumu incelendiğinde, erkeklerde plevra Tbc (%65), menenjit Tbc (%55), menenjit dışı santral sinir sistemi Tbc (%52) ve milier Tbc (%54) fazla görülmüştür. Kadınlarda fazla görülen organ tutulumları ise intratorasik lenfadenit (%71), intratorasik lenfadenit (%57), gastrointestinal sistem-periton (%66), genito-üriner sistem (%59), vertebra (%53), vertebra dışı kemik-eklem (%58) ve bu sayılanlar dışındaki organ tutulumlarıdır (%60) (3). Bu çalışmada ise, akciğer dışı hastalarda cinsiyet durumu incelendiğinde erkeklerde, plörözi Tbc (%73), menenjit Tbc (%57), miliyer Tbc (%71) en fazla görüldü. Kadınlarda ise Lenfadenit (%64) ile en fazla görüldü.

Çalışmamızda hastaların beşte dördünün 50 yaş altında idi. Hasta nüfusumuzun büyük kısmının gençlerden oluştuğu söylenebilir. DSÖ verilerinde Tbc hastalarının %70’inin 15-54 yaş arasında olduğu sonucuyla paralel bulunmuştur (30). Ülkemizde yapılan bir araştırmada Tbc hastalarının %31’inin 25-34 yaş grubunda olduğu gösterilmiştir (10,12,25). Yurtdışında yapılan çalışmalarda Tbc hastalarının ağırlıklı olarak gençlerden oluştuğu gösterilmiştir (28).

Tbc hastalığının genç yaş grubunda fazla olması, salgının ve bulaşmanın sürdüğünü göstermektedir. Yaşlı nüfusta hastalığın fazla olması ise geçmişteki salgının etkisi ile enfekte olmuş insanların yaşlanınca hastalandığını ve bulaşmanın artık önem taşımadığını göstermektedir.

Türkiye’de Tbc hastaların yaş oranına bakıldığında, hastaların büyük kısmının genç olduğu görülmektedir. Bunun nedeni nüfusun genç olmasıdır. Yaş gruplarına göre hasta sayıları grafiği yapıldığında genç yaşta zirve görülmektedir. Yaş gruplarına göre hastalığın olgu hızları incelendiğinde ise iki nokta dikkat çekmektedir; Birincisi 15-34 yaş grubudur, ikincisi de ileri yaşlardır (3). Bu durum, hem ülkemizde Tbc salgınının kısmen olduğunu hem de ileri yaşlarda artış nedeniyle Tbc kontrolünde belirli bir başarı olduğunu göstermektedir. Ülkemizin farklı yörelerinde vaka hızları çok farklıdır. Bu durum, Türkiye’deki hastalık kontrolünün de farklılıklar olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda 15 -34 yaş grubu fazla görülmesi, kontrollerin diğer illere göre daha az olduğu kanısını uyandırmaktadır.

Çalışmamızın en çarpıcı sonuçlarından biride hane halkı sayısının yoğunluğu ile ilgilidir. Van ilinin ortalama hane halkı büyüklüğü 7.53 ile ülke sıralamasında 7. sıradadır (6). Yakın temasın bulaşmasında etkili olduğu Tbc hastalığı için ev halkı büyüklüğünün insidans üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Türkiye’de nüfusun yaklaşık %2’si günde 1 dolardan daha az, %16’sı da günde 1-2 dolar arasında kazanca sahiptir (2,12). Devlet İstatistik Enstitüsüne göre 2003 yılı Aralık ayında 4 kişilik ailenin yoksulluk sınırı 1637 Türk Lirasıdır. Ayrıca asgari ücretin 306 Türk lirası olması bireylerin önemli bir kısmının yoksulluk sınırında olduğu anlamına gelmektedir. Yoksulluğun; yetersiz beslenmeye, sağlıksız evlerde barınmaya, suç işleme oranlarını arttırarak cezaevi gibi kalabalık ortamlarda yaşamaya ve hatta konutsuz yaşam tarzına yol açarak Tbc gibi hastalıkları direkt veya indirekt olarak etkileyebilmektedir (31).

Çalışmamızda Tbc olguların sağlık güvencesine bakıldığında %50.2 ile yeşil kart en fazla durumda olduğu görüldü. Van halkının kişi başı yıllık

ortalama geliri; 6672 Türk Lirası ile Türkiye’de 77. sırada olduğu tespit edilmiştir (7). İşsizlik oranı %17.2 Türkiye’de 79. Sırada olduğu tespit edilmiştir (4). Okur-yazar oranı % 87.9 Türkiye’de 77. Sırada olduğu tespit edilmiştir (8). Van Sosyo-ekonomik gelişmişlik sıralamasında Türkiye’de 76. sırada olduğu tespit edilmiştir (9). Hem Tbc hem de akciğer Tbc insidansı üzerinde bu sosyo-ekonomik parametrelerin etkili olduğu düşünülmektedir. Nitekim İngiltere’de yapılan bir çalışmada işsizliğin Tbc prevalansını arttırdığı saptanmıştır (23). Ayrıca Çin’de yapılan benzer bir çalışmada sosyo-ekonomik gelişmişlik parametrelerinin Tbc sıklığını etkilediği belirtilmiştir (22). Hırvatistan’da yapılan bir çalışmada Tbc insidansı göçmenlerde önemli ölçüde yüksek saptanmıştır (27). Bunlar ve benzeri diğer faktörlerin Tbc insidansı üzerine olan etkilerinin ayrıntılı çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Çalışmada 2005-2011 yılları arasında saptadığımız insidans yıllara göre sırasıyla 100.000’de 16.4, 18.4, 16.7, 17.8, 13.5, 15 ve 10.7 olarak tespit edildi. Bulunan rakamlar Türkiye ortalamasının oldukça altındadır. Tbc tanısının uzman hekimlerce hastanelerde konulmuş olması önemli sorunlardan birisidir. Birinci basamak sağlık hizmetlerinin veremle savaşta daha etkin olması gerektiği kanısındayız. Yapılan çalışmalar, hastaların, belirtiler başladıktan sonra başvurdukları yerin birinci basamak kuruluşları olduğunu göstermektedir (16). Bu durumun tersine ülkemizde ne yazık ki ülkemizde Tbc hastalarının %60-75’inin tedavisine hastanelerde uzman hekimlerce başlanmaktadır (25). Tüberküloz tanısını koyan hekim tarafından hastanın izlenmesi VSD’lerinin etkin olarak kullanılmadığını düşündürmektedir. Bu durum, dispanserlere kayıtlı hastalar dışındaki hastaların sayıları ve özelliklerinin bilinmemesine yol açmaktadır (25).

Eğer bir toplumda uygulanan olgu bulma çalışmaları, o toplumun tüm bireylerini kapsamıyorsa, kayıt ve ihbar sistemi yetersizse, hastalık insidansı ile ilgili rakamlar o toplumdaki Tbc sorununun boyutlarını yansıtmada yetersiz kalacaktır. Gerek tanı gerekse ihbar sistemindeki yetersizliklerin beklenenden düşük insidans bulmamıza neden olduğunu düşünmekteyiz.

Yapılan bir çalışmada lkemizde Tbc hastalarının %22,7'si akciğer dışı Tbc olarak saptanmıştır (26). Amerikan Birleşik Devletinde akciğer dışı tüberküloz olguları tüm tüberküloz olgularının %5.4' olduğu görülmüştür, bunların %30-50'si tüberküloz lenfadenittir; en sık tutulan boyun lenf bezleridir (21) Mevcut çalışmada bu oranın %48.7'si akciğer dışı Tbc olduğu, %49.1'i akciğer Tbc ve %2.2'si akciğer+akciğer dışı Tbc olduğu görüldü. Çalışmamızda akciğer dışı tberklozlar içerisinde lenf bezi Tbc'si %34 ile en fazla bulunmuş ve olgularda kadın oranının erkek oranına oranla daha fazla olduğu görüldü. Lenf bezi tüberkülozu, akciğer dışı tüberkülozun en sık görülen türüdür. Genellikle boyundaki lenf bezleri tutulur. Gelişmekte olan ülkelerde özellikle boyundaki lenf bezi büyümelerinin en önemli nedenidir (18). Gerek lkemizden gerekse yurt dışından bildirilmiş serilerin çoğunda lenf bezi tüberkülozlu olgularda kadın/ erkek oranı yüksektir (1,14,18). Dandapat çalışmasında bu durumu kadınların görüntülerini önemsemeleri ve erkek egemen toplumlarda kadınların beslenmelerinin daha kötü olması ile açıklamıştır (13).

Nüks oranının en aza indirilmesi hastaların düzenli ve yeterli tedavi almalarına bağlıdır. Çalışmamızda nüks oranı %1,8 olarak tespit edildi. Nüks olgu sayısının yksekligi düzenli tedavinin sağlanamamasına, ülkemizde ve bölgemizde doğrudan gözetimli tedavinin ne kadar uygulandığına bağlıdır. Maliyet-etkililik analizi

yapıldığında doğrudan gözetimli tedavinin gözetimsiz tedaviden daha iyi olduğu da belirtilmiştir (24).

Tüberküloz hastaların üçte birinde yapılan İDT (ilaç duyarlılık testi) sonucu incelendiğinde, 2005, 2006 ve 2007 yıllarında sırasıyla, yeni olgulardaki izoniyazid direnci %9, %11 ve %12 bulunurken, rifampisin direnci de %4, %5 ve %5 bulunmuştur (3). Aynı üç yılda çok ilaca dirençli (İD) Tbc oranı yeni olgularda %3, tedavi görmüş olgularda sırasıyla %18, %17 ve %17 bulunmuş, tüm hastalarda ise üç yılda da %5 İD Tbc saptanmıştır. Çalışmada 2010 ve 2011 yılları için ise Verem Savaş Dispanserin'de bulunan tüm hastaların takip, tedavi ve bildirimde kullandıkları standart aylık formlarına bakılmış, fakat İDT sonuçlarına ya bakılmadığı veya kayıt edilmediği görülmüştür.

Yapılan alışma ile tüberküloz hastalığının Van ilinde cinsiyet farkına, farklı yaş aralıklarına, etkenin görülme yerine ve sosyoekonomik duruma göre farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmada, tüberküloz hastalığının yıllara göre insidansına baktığımızda 2010 yılında geçmiş yıllara göre insidansta bir artış, 2011'de ise insidansta düşüş görülmektedir. Oysaki Türkiye genelinde 2010 yılında belirgin bir düşüş görüldüğü tespit edilmiştir. 2010 yılındaki bu durum ilin sosyoekonomik durumu, hane sayısının fazlaligi gibi sebeplerden kaynaklanabileceğini göstermektedir. 2011 yılındaki insidanstaki düşüş son yıllarda başlatılan doğrudan gözetim sistemi ile tedavinin özenle uygulanmış olabileceğini akla getirmektedir.

İlimizde Tbc vakalarının sosyo-demografik, hastalığa ait ve sosyo-ekonomik durumlarıyla ilgili olarak yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır. Bu yüzden hastalığın kontrol altına alınmasını ve hedef kitlenin tanınmasına olanak sağlayacak veriler yetersizdir. Tüberküloz hastalığının Van İl'inde epidemiyolojisi ve kontrol altına alınması

amacıyla daha geniş araştırmalara ihtiyaç duyulduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Aksel N, Tavusbay NA, Çakan A. (2005): Lenf bezi tüberkülozlu olgularımız. Akciğer Arşivi, 1:30-33.
2. Anonim (2001): Fakirlik ve Sağlık Bülteni – Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölge Ofisi'nin Aldığı Tedbirler. DSÖ Avrupa Bölge Ofisi, Danimarka Basın Bülteni, 2001.
3. Anonim (2009): Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı. Türkiye'de Verem Savaşı Raporu, Üçler Matbaası, Ankara.
http://tuberkuloz.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/Dokumanlar/raporlar/turkiyede_verem_savasi_2009_raporu.pdf
4. Anonim (2010): Türkiye İstatistik Kurumu. İl Düzeyinde Temel İşgücü Göstergeleri, 8536.
<http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=8536>
5. Anonim (2011a): Türk Toraks Derneği Toraks Kitapları, Tüberküloz, Aves Yayıncılık.
<http://www.toraks.org.tr/uploadFiles/book/file/79201116497-TUBERKULOZ.pdf>
6. Anonim (2011b): Türkiye İstatistik Yıllığı. Türkiye İstatistik Kurumu Matbaası, 3665, 38, Ankara.2011.
http://istmat.info/files/uploads/47802/turkeys_statistical_yearbook_2011.pdf
7. Anonim (2011c): <http://tr.wikipedia.org/> Türkiye'de iller bazında kişi başına düşen yıllık milli gelir2011
8. Anonim (2011d): TRB2, Mevcut Durum Analizi, Eğitim Yapısı, Bölge'de Okur-Yazarlık Oranları,3-6,
http://www.daka.org.tr/panel/files/files/yayinlar/TRB2_Bolgesi_MDA_Egitim_2011.pdf
9. Anonim (2013):
<http://www.belgeler.com/blg/28fl/nfs-artihizi.2013>

10. Aydın, H. (1999): "Akciğer Tüberkülozu Olan Hastaların Hastalıklarına İlişkin Bilgi Düzeyleri", H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), Ankara.
11. Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, Garnier T, Gutierrez C, Hewinson G, Kremer K, Parsons LM, Pym AS, Samper S, van Soolingen D, Cole ST. (2002): A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. Proc Natl Acad Sci USA,19:3684-3689.
12. Çalışır H, Açık M, Öğretensoy M, Ökten F. (1997):"Tüberkülozlu Olguların Sosyal ve Ekonomik Koşulları", Solunum Hastalıkları,8:4, 635-641.
13. Dandapat MC, Mishra BM, Dash SP, Kar PK. (1990): Peripheral lymph node tuberculosis: a review of 80 cases. Br J Surg,77:911-912.
14. Geldmacher H, Taube C, Kroeger C, Magnussen H, Kirsten DK. (2002): Assessment of lymph node tuberculosis in Northern Germany. A clinical review. Chest,121:1177-1182.
15. Goodwin RA, Des Prez RM. (1983): Apical Localisation of Pulmonary Tuberculosis, Chronic Pulmonary Histoplasmosis and Progressive Massive Fibrosis of The Lung. Chest ,83, 801.
16. Hudelson P. (1996): "Gender differentials in tuberculosis: the role of socio-economic and cultural factors". Tuber Lung Dis. Oct; 77:(5), 391-400.
17. Iseman MD. (2002): Klinisyenler İçin Tüberküloz Kılavuzu. Çeviren: Ş. Özkara. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul,431-448.
18. Jha BC, Dass A, Nagarkar NM, Gupta R, Singhal S, (2001): Cervical tuberculous lymphadenopathy: changing clinical pattern and concepts in management. Postgrad Med J, 77:185-187.
19. Johansson E, Diwan VK, Huong ND, Ahlberg BM. (1996): Staff and patient attitudes to

tuberculosis and compliance with treatment: an exploratory study in a district in Vietnam. *Tuber Lung Dis*, Apr,77:(2), 178-183.

20. Kocabaş A. (1996): Akciğer tüberkülozu: Willke Topu A, Söyletir G, doğunay M , eds infeksiyon hastalıkları istanbul: Nobel Tıp Kitabevleri,396-443.

21. Lazarus AA, Thilgar B. (2007): Tuberculous Lymphadenitis. *Dis Mon*, 53:10-15.

22. Liu JJ, Yao HY, Liu EY. (2005): Analysis of factors affecting the epidemiology of tuberculosis in China. *Int J Tuberc Lung Dis*, 9:450-454.

23. Mangtani P, Jolley DJ, Watson JM, Rodrigues LC. (1995): Socioeconomic deprivation and notification rates for tuberculosis in London during. *BMJ*, 310:963-966.

24. Moore RD, Chaulk CP, Griffiths R, Cavalcante S, Chaisson RE. (1996): Cost-effectiveness of directly observed versus self-administered therapy for tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996,154, 1013-1019.

25. Özkara Ş, Kılıçaslan Z, Öztürk F. (2002): Bölge verileriyle Türkiye’de Tüberküloz. *Toraks Dergisi*,3: 178-187.

26.Özkara, Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. (2003): Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı yayınları, Ankara.2003.

27. Pavlovic M, Simic D, Krstic-Buric M. (1998): Wartime migration and the incidence of tuberculosis in the Zagreb region Croatia. *Eur Respir J*,12.1380-1383.

28. Sanchez-Perez HJ, Flores-Hernandez JA, Jansa JM, Cayla JA, Martin-Mateo, M. (2001): “Pulmonary Tuberculosis and Associated Factors in Areas of High Levels of Poverty in Chiapas, Mexico”, *International of Journal of Epidemiology*,30:386-393.

29. Stead, WW. (1996): Epidemiology of the Global Distribution of Tuberculosis. In: Koprowski

H, Oldstone MBA. Eds. *Microbe Hunters. Then and Now. Medi- Ed Pres*, 23:311- 317.

30. WHO (2002a): Report, Global Tuberculosis Control, surveillance, planning, financing, WHO/CDS/TB.

31. WHO (2002b): Report. Global Tuberculosis Control, surveillance, planning, financing, WHO/CDS/TB.



Mardin Bölgesi İçme Sularında Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması

Semih YAŞAR¹, Muhammed Abdullah ÜSTEK², Aydın Şükrü Bengü³, Leyla MİS⁴

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Özalp Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikerliği Bölümü Özalp-Van, Türkiye, semihyasar@yyu.edu.tr

²Mardin Fen Lisesi, Mardin, Türkiye, abdullahus@hotmail.com

³Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Bingöl, Türkiye, abengu@bingol.edu.tr

⁴Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye, leylamis@yyu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received
20.11.2016

Kabul Tarihi / Accepted
26.12.2016

Yayın Tarihi / Published
31.12.2016

Özet: Bu çalışmada Türkiye'nin Güneydoğusunda bulunan Mardin ili genelinde bulunan içme sularında Mangan (Mn), Kobalt (Co), Bakır (Cu) ve Çinko (Zn) analizi yapılarak Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'nin insani amaçlı içme ve kullanma suyu standartlarına uygun olup olmadığının tespiti amacıyla 2012 yılında yapılmıştır. Araştırma için Mardin il genelinde bulunan içme suyu kaynaklarından olmak üzere daha önceden %1'lik HNO₃ çözeltisiyle yıkanmış, kilitli kapaklı, 1,5L hacminde pet şişelerde toplam 15 numune alınmış, alınan numunelere 15'er ml %65'lik HNO₃ çözeltisi ilave edilerek analiz gününe kadar -18 °C de muhafaza edilmiştir. Su numunelerinin analizleri AAS cihazı ile yapılmıştır. Mn için yapılan analizler sonucunda elde edilen değerlerin TS.266 standartlarına göre yüksek olduğu, Co için bakıldığında 3 nokta hariç standartların üzerinde olduğu, Zn ve Cu konsantrasyonlarının standartların altında olduğu görülmüştür. Mn ve Co konsantrasyonlarının yüksek çıktığı bölgelerde gerekli önlemlerin alınarak ölçümlerin düzenli olarak yapılması halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ağır Metal, Mardin, Su

Investigation of Heavy Metal Levels in Drinking Water of Mardin Province

Abstract: This Study covers the Manganese (Mn), Cobalt (Co), Copper (Cu) and Zinc (Zn) rate in drinking waters in Mardin Province is analysed in order to whether. It's drinkable for human being use according to the Turkish Standarts Institute (TSE) in 2012. For this research, the samples of spring water resources in Mardin Province the pre-washed of 1 % HNO₃ solution, covered and locked and the volume of 1,5L bottle tottaly 15 samples from 15 ml of 65 % HNO₃ solution is added and stored as -18 °C until analysing day. The analysis of water samples has been made by ASS device. It has been observed that the values which were obtained as a result of the analyses that was made for Mn are high by the standards of TS266, when looking through for Co, except for 3 samples, it is over the standards, Zn and Cu concentrations are under the standards. It is of great importance in terms of public health to measure regularly by taking necessary precautions in the areas where Mn and Cu concentrations are high.

Key Words: Heavy metal, Mardin, Water.

Sorumlu yazar: Semih YAŞAR,
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Özalp Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikerliği Bölümü Özalp-Van,
Türkiye, semihyasar@yyu.edu.tr

1. GİRİŞ

Su, ilk çağlardan beri insanlık ve yaşam için hayati önemini koruyan bir maddedir. Su, insanlar ve diğer canlılar açısından hayati öneme sahiptir. Teknolojinin gelişmesi sonucu, endüstri ve sanayi atıkları ile kentsel atıkların bulunduğu kanalizasyon sularının boşaltıldığı baraj ve göllerde kullanılabilir su kaynakları azalmakta ve kirlenmektedir (10). Su, toprağa geçerken filtre olayı nedeniyle içinde bulunan asılı maddeler, bakteriler ve diğer mikroorganizmalar da dahil olmak üzere kısmen veya tamamen temizlenir; fakat bu defa da toprakta bulunan madensel tuzlar vb. eriyerek suya karışır. Bu nedenle yeraltı sularının içerisinde yüzeysel sulara göre daha büyük oranda mineral bulunmaktadır. Bu minerallerin bir bölümünün bulunması istenir bir durumdur. Flor, kalsiyum buna örnek verilebilir. Ancak toksik olan maddelerin hiçbirisinin suyun içerisinde bulunmaması gerekir (12). Nüfus artışı, kentleşme, sanayileşme gibi etkenler ile tarımsal mücadele ilaçları ve kimyasal gübreler, endüstri kuruluş atıklarının arıtılmadan akarsulara verilmesi veya bu atıkların toprağa gömülmesi sonucu bu atıklar yağmur sularına karışarak yeraltı sularının kirlenmesine sebep olabilmektedir (4).

Ağır metaller olarak bilinen metallerin belirli miktarları organizmalar için yararlı olmakla beraber belirli bir dozdan sonraki miktarları canlı organizmalar için zararlı olabilmektedir. Suda çözülmüş halde bulunan ve en tehlikeli olarak bilinen metallerin başlıcaları Hg, Pb, Cu, Ni, Cd, Zn ve Co'tur (11). Dünyadaki suyun %97,6'sı okyanus ve denizlerde tuzlu su olarak bulunmaktadır. Kutuplarda ve buzullarda bağlanmış olan su ise dünyadaki suyun %1,9'u kadardır. Buna göre, insanın kullanabileceği su dünyadaki toplam suyun yalnızca %0,5'ini oluşturur. İçme amaçlı kullanılabilir su miktarı bakımından dünyamız ne yazık ki su fakiridir. Bu fakirliğin nedeni olarak çevre kirliliği, bilinçsiz su tüketimi, azalan yeraltı kaynakları gibi nedenler sayılabilir (12).

Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliğine göre hazırlanmış bazı toksik ağır metal parametreleri Tablo 1'de verilmiştir. Ağır metal kirliliği de kimyasal kirlilik içinde olarak değerlendirilmektedir. Kimyasal kirliliğe neden olan kirleticilere boyalar, deterjanlar, pestisitler ve petrol ürünleri örnek olarak verilebilir. Ağır metallerin başlıcaları Cu, Fe, Zn, Pb, Hg, Co, Mn, Cr, Se, Ni, V, Cd'dur. Bu metallerin birçoğu canlıların yaşamı için gerekli olmakta ve organizmaların organik molekül ve protein yapılarına katılmaktadır.

Tablo 1. Bazı toksik ağır metal parametreleri (9).

	Su Kalite Parametreleri	WHO (ppb)	Su Kalite Sınıfları (TSE)			
			I	II	III	IV
1	Çinko (Zn)	5	200	500	2000	>2000
2	Kurşun (Pb)	50	10	20	50	>50
3	Kadmiyum (Cd)	5	3	5	10	>10
4	Krom (Cr)	-	20	50	200	>200
5	Nikel (Ni)	-	20	50	200	>200
6	Bakır (Cu)	1	20	50	200	>200
7	Kobalt (Co)	-	10	20	200	>200
8	Mangan (Mn)	100	100	500	3000	>3000

Ancak 20. yüzyılda birçok ülkede baş gösteren su sıkıntısı son yıllarda ülkemizi de tehdit etmeye başlamıştır. Özellikle sanayi ve endüstrileşmenin

yoğun olduğu kent bölgelerinde yer alan tatlı su rezervleri bu gelişmeden üst düzeyde olumsuz etkilenmektedir (13). Ağır metaller, özellikle belli

bir dozun üzerindeki miktarları dikkate alındığında canlı sağlığı açısından tehlikeli sayılabilecek elementlerdir. Ağır metaller sularla taşınarak deniz canlılarına, toprağa ve oradan da insanlara ulaşabilmektedir (1).

Manganez, yeryüzünde her yerde bulunabilen çok yaygın bir bileşiktir. İnsanların hayatta kalabilmeleri için gerekli bir element değildir. Mangan çok yüksek konsantrasyonlarda insan vücudunda mevcut olduğunda toksiktir. Manganez etkileri başlıca solunum sisteminde ve beyinde gözlenir. Manganez zehirlenmesinin belirtileri halüsinasyonlar, unutkanlık ve sinir hasarı olarak sayılabilir. Manganez ayrıca Parkinson, akciğer embolisi ve bronşite neden olabilir (5). Mangan konsantrasyonunun 0,1mg/L'nin üzerine çıkması sularda istenmeyen tat ile çamaşırlarda ve tesisat ekipmanlarında lekelerle sebep olmaktadır (14).

Kobalt, kaynak sularında çok çözünmeyen CoS (kobalt sülfür) olarak bulunmaktadır. İnsanlar soludukları hava, içme suları ve kobalt içeren yiyecekler yiyerek kobalta maruz kalabilirler. Toprak ve su ile bitkilerde yüksek konsantrasyonlarda birikebilir, bitki ve hayvansal besinler aracılığıyla da insanlara geçebilir. Kobalt, insan sağlığı için gerekli olan B12 vitamininin bir parçası olduğu için insanlar için faydalı olabilmektedir. Kırmızı kan hücrelerinin üretimini uyarır, hamile kadınlarda ve anemi tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak buna rağmen yüksek konsantrasyonları insan sağlığı için zararlı olmaktadır. Soluk alma yoluyla havadan alınan kobaltın yüksek konsantrasyonları astın, zatürre gibi akciğer rahatsızlıklarına neden olabilir. Kobaltın yüksek konsantrasyonları kusma, bulantı, kalp sorunları, Tiroit hasarı gibi sorunlara neden olabilmektedir. (6). Gıda ve su yoluyla yüksek düzeyde radyoaktif olmayan kobalt alımının insan ve hayvanlarda kanserojen olmadığı bildirilmektedir. Fakat yapılan hayvansal

deneylerde direkt solunum yoluyla verildiğinde ya da kas ve deri altına uygulandığında kansere sebep olduğu görülmüş ve buna dayanarak, insanlarda da kanserojen olabileceği bildirilmiştir (10).

Çinko tabletlerinin vücudun deri ve kaslarında erken yaşlanmaya karşı koruyucu antioksidan etkiye sahip olduğuna inanılmaktadır. Endüstriyel atıklar ve toksik atıklardan dolayı içme suyunda çinko miktarının artması ciddi sağlık sorunlarına sebep olabilmektedir. Çinkonun eser miktarı insan sağlığı için gerekli bir elementtir. İnsan vücuduna çok az çinko absorbe edildiği zaman iştah kaybı, tat ve koku kaybı, yaraların yavaş iyileşmesi gibi etkiler görülebilir. Çinko eksikliği doğum kusurlarına sebep olabilirken vücuttaki çinko konsantrasyonunun yüksek olması mide krampları, cilt tahrişleri, bulantı, kusma ve anemi gibi seçkin sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Çok yüksek seviyelerde pankreasa zarar verip protein metabolizmasının etkilenmesine ve damar sertliğine neden olabilmektedir (7).

Bakır içme suyu, hava ve gıda gibi birçok türde bulunabilir. Bu nedenle insanlar yeme, içme ile birlikte ve nefes alarak da her gün belli miktarlarda bakırı absorbe ederler. Bakır insan sağlığı için gerekli bir eser elementtir, çünkü bakır emilimi insan vücudu için gereklidir. Bakıra uzun süreli maruz kalma burun, ağız ve gözlerde tahrişe neden olabilir ve baş ağrısı, mide ağrısı, baş dönmesi, kusma ve ishale neden olur. İnsan vücudunun kasıtlı olarak yüksek bakır tutulumu karaciğer ve böbrek hasarı ve hatta ölüme neden olabilir. Karaciğer sirozu, beyin hasarı, böbrek hastalığı ve bakır birikimi ile karakterize Wilson Hastalığı, kronik bakır zehirlenmesi sonucu oluşan rahatsızlıklardandır (8). Ülkemizde TS 266 ile belirlenen İçme ve kullanma suları için toksik madde limitleri Tablo 2'de verilmiştir. Her ülke ulusal kaynak suyu, içme ve kullanma suyu standartlarını kendisi belirlemektedir. Bu

standartların yanında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Avrupa Birliği (AB) tarafından içme ve kullanma suyu standartları oluşturulmuştur. Ülkemizde TS-

266 da belirlenen standartlar kullanılmaktadır (14).

Tablo 2. İçme ve kullanma suları için toksik madde limitleri (9)

Bileşenler		Kaynak Suları	İçme ve Kullanma Suları
		Max.Değer	Max. Değer
Arsenik	(µg/L)	50	50
Kadmiyum	(µg/L)	5	5
Siyanür	(µg/L)	50	50
Krom	(µg/L)	50	50
Civa	(µg/L)	1	1
Nikel	(µg/L)	50	50
Kurşun	(µg/L)	50	50
Antimon	(µg/L)	10	10
Selenyum	(µg/L)	10	10
Toplam Pestisitler	(µg/L)	0,5	0,5

Tablo 3. Suda fazla miktarda bulunması istenmeyen maddeler (9)

		İçme ve Kullanma Suları	
		Önerilen Değer	Max. Değer
Bor	(µg/L)	1000	2000
Demir	(µg/L)	50	200
Mangan	(µg/L)	20	50
Bakır	(µg/L)	100	3000
Çinko	(µg/L)	100	5000
Fosfor	(µg/L)	400	5000
Florür	(µg/L)	-	700
Baryum	(µg/L)	100	300
Gümüş	(µg/L)	-	10

Bu çalışma, Mardin il genelinden alınan içme suyu örneklerinde bulunan ağır metal (Cu, Co, Mn, Zn) düzeylerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışma materyalini Mardin ili Dargeçit, Derik, Kızıltepe, Mazıdağı, Midyat, Nusaybin, Ömerli, Savur ve Yeşilli ilçeleri olmak üzere il merkezi ve 9 ilçeden alınan su örnekleri oluşturmaktadır. Bu çalışma için il merkezinden 5 adet, Dargeçit ilçesinden 2 adet, Derik ilçesinden 1 adet, Kızıltepe ilçesinden 1 adet, Midyat ilçesinden 2 adet, Nusaybin ilçesinden 1 adet, Ömerli ilçesinden 1 adet, Savur ilçesinden 1 adet ve Yeşilli ilçesinden 1

adet olmak üzere toplam 15 numune alınmıştır. Alınan numuneler yerleşim yerlerinin ihtiyacını karşılayan içme suyu kaynaklarından temin edilmişlerdir. Araziden toplanan su numuneleri önceden hazırlanmış seyreltik HNO₃ çözeltisi ile yıkanıp kurutulmuş 1500 ml hacimli PET şişelerle alınmıştır. Alınan su örneklerinin üzerine kaynakta 15 ml %65'lik HNO₃ çözeltisinden ilave edilmiştir. Böylece ortam asitlendirilerek alınan su örnekleri içerisinde bulunan mikroorganizmaların canlılık faaliyetlerine son verilmiş ve ortamda bulunan metallerin başka formlar haline geçmeleri engellenmiştir. Alınan su numuneleri analiz

yapılıncaya kadar soğutucularda dondurularak bekletilmiştir.

Metot

Su numunelerinin metal analizleri Bingöl Üniversitesi Merkez Laboratuvarında bulunan Perkin Elmer AAS800 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi cihazı ile yapılmıştır. Analiz işlemine önce her metal için ayrı ayrı 1 ppm, 0.1 ppm 0.01 ppm ve 0.001 ppm konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanarak başlanmıştır. Her metal için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler AAS cihazında analiz edilerek cihazın kendi standart grafiklerin çizmesi sağlanmıştır. Standart grafikler her metal için %95-99 hassaslıkta çizilerek elde edilen analiz sonuçlarının hassas ve anlamlı olması hedeflenmiştir. Bu grafikler yardımı ile okumalar gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

Alınan su numunelerinde analizi yapılan metallere; Manganın ortalama değeri

0,164±0,010 ppm olarak tespit edilmiştir. 15 numunenin 8'inde kaydedilen değerler ortalama değerin altında, kalan 7 numuneden elde edilen verilerin ise ortalama değerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Kobaltın ortalama değeri 0,190±0,020 ppm olarak tespit edilmiştir. 15 numunenin 6'sında kaydedilen değerler ortalama değerin altında, kalan 9 numuneden elde edilen verilerin ise ortalama değerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Çinkonun ortalama değeri 0,051±0,014 ppm olarak tespit edilmiştir. 15 numunenin 9'unda kaydedilen değerler ortalama değerin altında, kalan 6 numuneden elde edilen verilerin ise ortalama değerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bakır'ın ortalama değeri 0,023±0,004 ppm olarak tespit edilmiştir. 15 numunenin 6'sında kaydedilen değerler ortalama değerin altında, kalan 9 numuneden elde edilen verilerin ise ortalama değerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Mardin yöresindeki 15 farklı noktadan alınan kaynak ve maden sularındaki ağır metal derişimleri (ppm)

Numune No	Numune Kaynağı	Mangan (Mn)	Kobalt (Co)	Çinko (Zn)	Bakır (Cu)
1	Dargeçit-1	0,138	0,238	0,104	0,055
2	Dargeçit-2	0,173	0,246	0,009	0,025
3	Derik	0,175	0,224	0,069	0,036
4	Kızıltepe	0,214	0,269	0,013	0,025
5	Mardin-1	0,167	0,169	0,092	0,017
6	Mardin-2	0,101	0,179	0,136	0,008
7	Mardin-3	0,113	0,054	0,006	0,003
8	Mardin-4	0,153	0,051	0,001	0,005
9	Mardin-5	0,206	0,254	0,010	0,028
10	Midyat-1	0,151	0,078	0,143	0,010
11	Midyat-2	0,141	0,198	0,014	0,020
12	Nusaybin	0,151	0,135	0,120	0,023
13	Ömerli	0,132	0,189	0,021	0,025
14	Savur	0,206	0,268	0,021	0,039
15	Yeşilli	0,236	0,294	0,011	0,027
Ortalama	Değerler	0,164±0,010	0,190±0,020	0,051±0,014	0,023±0,004

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada Mardin il genelinde bulunan 15 farklı noktadan yaz mevsiminde içme suyu kaynaklarından alınan su numunelerinde bu çalışma için belirlenen ağır metallerin (Cu, Co, Mn, Zn) konsantrasyonları tespit edildi.

Sularda bulunması muhtemel ağır metallerin tespit edilmesi insan sağlığı ve insan vücuduna vermesi muhtemel zararlar açısından önemlidir. Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Birliği gibi kuruluşlar sularda bulunması muhtemel ağır metaller ve bunların insan sağlığı için zararları ile ilgilenecek çeşitli standartlar oluşturmuşlardır. Günümüzde birçok gelişmiş ülke gibi Türkiye de kendi içme suyu standartlarını oluşturmuş ve insani tüketim amaçlı suların bu standartlara uygun olmasına özen göstermektedir. Ülkemizde TS 266 bu amaçla belirlenmiştir. Bu kriterlere bakarak analizi yapılmış bir suyun sağlık açısından içilmesinde bir sakınca olup olmadığına karar verilebilmektedir. Mardin il genelinde bulunan 15 farklı noktadan alınan su numunelerinde bulunan veriler ayrı ayrı değerlendirilerek şu sonuçlara ulaşılmıştır.

Çalışmamızda Mn için yapılan analizler sonucunda 15 numuneden elde edilen ortalama değer $0,164 \pm 0,010$ ppm olarak ölçülmüştür. Bu değer TS.266 standartlarına göre yüksek olduğu görülmüştür. Alınan su numunelerinden 6.sı olan Mardin-2 numunesi $0,101$ ppm lik değeri ile en düşük değere sahipken 15. numune olan Yeşilli ilçe suyu en yüksek değer olan $0,236$ ppm ile standartlara en uygun olmayan su olmuştur. İçme suyu kalite sınıflarına göre Mn konsantrasyonu bakımından su numuneleri I. sınıf sulara dahil olarak değerlendirilmektedir. Konya ilinde yapılan çalışmalardan birinde Mn konsantrasyonları kuyu sularında standartların üzerinde bulunmuş bunun nedeni olarak jeolojik yapıdan ve organize sanayi bölgesinden suya mangan karışmış olabileceği bildirilmiştir (14). Aynı bölgedeki diğer bir

çalışmada içme sularında Mn düzeylerinin standartların altında olduğu tespit edilmiştir (21). Manisa ilinde Gediz nehri su örneklerinde yapılan Mn konsantrasyonu ölçümlerinde suyun Mn açısından II. Kalite sular sınıfına girdiği ve standart değerlerin üzerinde olduğu bildirilmiştir (2). Van ilinde yapılmış bir çalışmada da Mn düzeyleri standart değerlerin üzerinde bulunmuştur (3). Manganın içme sularında $0,1$ mg/l'den fazla olması suyun lezzetinde bozulmaya sebep olur (19).

Yaptığımız çalışmada Co için yapılan analizler sonucunda numunelerden elde edilen ortalama değer $0,190 \pm 0,020$ ppm olarak bulunmuştur. Su numunelerinden 8.si olan Yalım beldesi mevkiinden alınan Mardin-4 numunesinde $0,051$ ppm ile Co açısından en düşük değer, 15. numune olan Yeşilli ilçe suyunda ise $0,294$ ppm ile en yüksek değer tespit edilmiştir. Co konsantrasyonu numune alınan 7, 8 ve 10. noktalar hariç Rusya içme suyu standardı olan $0,1$ ppm'den daha yüksek olarak ölçülmüştür. Mardin-3, Mardin-4 ve Midyat-1 numuneleri Co konsantrasyonu açısından Rusya içme suyu standardının altında ölçülmüştür. Kobalt konsantrasyonu bakımından içme suyu kalite sınıfları değerlendirildiğinde Mardin-3, Mardin-4 ve Midyat-1 numuneleri II. sınıf geriye kalan bütün su numuneleri III. sınıf içme suyu olarak tespit edilmiştir. Manisa ilinde yapılan bir çalışmada Gediz nehri su örneklerinde Co konsantrasyonu ölçümleri yapılmış sonuçlar Rusya içme suyu standardından düşük bulunmuş ve su kalite standartlarına göre III. kalite su olarak değerlendirilmiştir (2). Hatay ilinde Asi nehri suyunda yapılan başka çalışmada Co konsantrasyonunun Rusya içme suyu standartlarından düşük olduğu bulunmuştur (10). Van ilinde yapılan bir çalışmada içme ve kuyu sularının ölçülen Co konsantrasyonları açısından su kalite sınıflandırılmasına göre III. kalite sular sınıfında yer aldığı bildirilmiştir (3). Organizma

için esansiyel bir element olan kobalt, vitamin B₁₂'nin yapısında bulunur. Vücut içerisinde demir kullanımı ve tiroid hormonlarının sentezinde önemli görevleri vardır Endüstriyel atıklarla suya karışır. Yüksek miktarda alımı toksik etki yapar (17,18).

Bu çalışmada Mardin ilinde 15 ayrı noktadan alınan su numunelerinin ortalama Zn konsantrasyonu 0,051±0,014 ppm olarak ölçülmüştür. İl genelinde su numunelerinden 8.si olan ve Yalım Beldesi mevkiinden alınan su numunesinde Zn açısından 0,001 ppm ile en düşük değer, 10. numune olan Midyat-1 numunesinde ise 0,143 ppm lik değerle en yüksek değer tespit edilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre Mardin ilinde hiçbir bölgede Zn konsantrasyonu standartların üzerine çıkmamaktadır. En yüksek olarak tespit edilen değer bile içme suyu kalite sınıfları açısından 1.sınıf içme suyu standartlarına sahip olduğu görülmektedir. Konya ili içme sularında (21) ve Van ili içme ve kuyu sularında (3) yapılan Zn konsantrasyonları ölçümleri sonucu çıkan değerlerin standartlara uygun olduğu bildirilmiştir. Şanlıurfa ili kuyu sularında yapılan bir araştırmada bölgedeki kuyu sularının Zn bakımından az kirlenmiş olduğu bildirilmiştir (20). Çanakkale şehir musluk sularında yapılan Zn konsantrasyonu ölçümlerinde değerlerin standartların altında olduğu tespit edilmiştir (16). Zn organizmada protein sentezi, karbonhidrat metabolizması ve enzimatik reaksiyonlarda önemli görevleri vardır. Bazı enzimlerin yapısında bulunmaktadır (18). Elementel halde zehirleyici özelliği yoktur fakat asit veya asitli maddeler varlığında çözünebilir çinko tuzlarının oluşumu ile zehirlenmelere sebep olabilir. Genelde doğal suların içerisinde bulunmaz. Endüstri atıkları ve su borularının (galvanizli, bakırlı) korozyonu ile suya karışabilir. (15,19). Çinko tuzlarının üretildiği sanayi kolları, çinko oksit içeren boya türü maddeler, beşerî ve

veteriner hekimlikte kullanılan çinko içerikli preparatlar, antifungal ilaçlar ve insülin uygulamaları çinkonun bulaşımını sağlayan en önemli kaynaklardır (15).

Araştırmamızda Mardin İl genelinde ortalama Cu konsantrasyonu 0,023±0,004 ppm olarak ölçülmüştür. Farklı noktalardan alınan su numunelerinden 7.si olan Kayacan mevkiinden alınan Mardin-3 numunesi 0,003 ppm lik Cu konsantrasyonu ile en düşük, 1.numune olan Dargeçit-1 numunesinde ise 0,055 ppm lik Cu konsantrasyonu ile en yüksek Cu konsantrasyonuna sahiptir. İçme suyu kalite sınıfları göz önüne alındığında Cu bakımından Dargeçit-1 numunesi II.sınıf, geri kalan 14 numunenin ise 1. sınıf içme suyu kalitesinde olduğu tespit edilmiştir. Cu konsantrasyonu tüm bölgelerde standart değerlerin altında ölçülmüştür. Konya ilinde yapıları şebeke ve kuyu suyu Cu konsantrasyonu analizlerinde bulunan sonuçların standartların altında olduğu bildirilmiştir (14,21). Kovancı'da Çanakkale ilinde içme sularında yaptığı ağır metal analizlerinde Cu konsantrasyonlarının standart değerlerin altında olduğunu söylemiştir (16). Alemdar ve arkadaşları, Van, İl'inde yaptıkları çalışmada Cu konsantrasyonlarının standart değerlere uygunluk gösterdiğini bildirmişlerdir (3). Bakır vücudumuz için esansiyel bir elementtir. Organizmada bağ doku sentezi iskelet mineralizasyonu, kolesterol metabolizması, bağışıklık sistemi ve hemoglobin sentezinde önemli görevleri vardır (18). En önemli kullanım alanı elektrik elektronik sanayidir. Bakır işletmelerine ait atıklar ve bakır yönünden zengin bölgelerden kaynaklanan akarsular bakır kirliliğinin en önemli kaynaklarıdır (15).

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere dayanarak; Tüm numunelerin Mn konsantrasyonu bakımından standart değerlerden yüksek olduğu, 15 noktadan alınan numunelerden 3 tanesinin Co

konsantrasyonu bakımından standartlara uygun kalan 12 tanesinin Co konsantrasyonu bakımından yüksek değerlere sahip olduğu, alınan numunelerin tümünün Zn konsantrasyonu bakımından kriterlere uygun olduğu, Cu konsantrasyonu bakımından tüm numunelerin ölçüm değerlerinin standartların altında olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Mangan ve Kobalt metalleri bakımından Mardin il genelinde bulunan içme sularının zengin olduğu, bu durumun çeşitli sağlık sorunlarına neden olabileceği, bu sorunların yerel yöneticiler ve halkla paylaşılması gerektiği düşünülmektedir. Mardin İl genelinde 15 farklı noktadan alınan içme suyu numunelerinde Çinko metali bakımından herhangi bir uygunsuzluğun olmadığı değerlendirilmiştir. Genel olarak az gelişmiş küçük şehirler ve ilçelerinde yerel yönetimlerin sağlıklı içme ve kullanma suyu alt yapıları oluşturamadıkları ve bu alt yapıların korunmasında güçlükler yaşandığından içme ve kullanma sularında çeşitli sorunlar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle uzun süre bakımı yapılmamış, eskimiş boru ve isale hatları kaynaklı metal kirlenmelerinin halkın sağlıklı ve standartlara uygun içme ve kullanma suyuna ulaşmalarını güçleştirdiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1. Aközcan S. (2009):** Didim ve İzmir körfezi sediment, deniz suyu ve farklı deniz organizmalarında bazı radyonüklid ve ağır metal düzeylerinin izlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir,
- 2. Aksoy G. (2005):** Gediz nehri ağzında su, sediment ve planktondaki ağır metal düzeylerinin ölçülmesi. Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Hidrobiyoloji Yüksek Lisans Programı, Yüksek lisans tezi, Manisa,
- 3. Alemdar S, Ağaoğlu S, Alişarlı M, Dede S. (2007):** Van bölgesi su kaynaklarında ağır metal kirlilik düzeyleri. *Vet. Bil. Derg.*; 23, 1:19-29.

4. Anonim (2015a):

<http://www.cevrekirliligi.biz/cevre.php?kirliligi=sukirliligi>. Erişim: 10-09-2015

5. Anonim (2015b):

<http://www.lenntech.com/periodic/elements/mn.htm> Erişim: 10-09-2015.

6. Anonim. (2015c):

<http://www.lenntech.com/periodic/elements/co.htm> Erişim: 10-09-2015.

7. Anonim. (2015d):

<http://www.lenntech.com/periodic/elements/zn.htm> Erişim: 10-09-2015.

8. Anonim. (2015e):

<http://www.lenntech.com/periodic/elements/cu.htm> Erişim: 10-09-2015.

9. Anonim (2016a): TSE, Su Kalite Kontrol Yönetmeliği.

10. Çalışkan E. (2005): Asi nehrinde su, sediment ve karabalık'ta ağır metal birikiminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri AD, Hatay,

11. Dökmeci AH. (2005): Gala gölü ve gölü besleyen su kaynaklarında ağır metal kirliliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

12. Güler Ç. (1997): Su kalitesi, Çevre Sağlığı Kaynak Dizisi (43), Ankara, 1997.

13. Hafızoğlu E, Tekin F. (2004): Gediz Nehrinde (Manisa) Ağır Metal Kirliliğinin İncelenmesi. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*; C:2, S:2, Sayfa:41-51.

14. Kahraman ÜC. (2007): Konya garnizon birliklerindeki kuyu suları ile şehir şebeke sularının su kalitesi ve ağır metaller yönünden karşılaştırılması. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya.

15. Kaya S. (1995): Veteriner klinik toksikoloji. Medisan Yayın No: 21, Ankara.

- 16. Kovancı A. (2008):** Çanakkale şehir şebeke suyunda ağır metal analizi ve bakteriyolojik inceleme. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale.
- 17. Munsuz N, Ünver İ. (1995):** Su Kalitesi. Ankara Üniversitesi. Ziraat Fak. Yayın No: 1389, Ders Kitabı, Ankara,
- 18. Saldamlı İ, Uygun Ü. (1998):** Gıda Katkı Maddeleri, Saldamlı İ (ed) Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara,
- 19. Tekinşen OC, Yalçın S. (1990):** Su hijyeni ve Muayenesi. Selçuk Üniv. Aksaray MYO Ders Notları, Teksir No:2, Aksaray,
- 20. Temamoğulları F, Dinçoğlu AH. (2010):** Şanlıurfa ve Çevresindeki Kuyu Sularında Çinko ve Selenyum Düzeyleri. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*; 16 (2): 199-203.
- 21. Yalçın M. (2005):** Konya bölgesi içme sularındaki ağır metal düzeylerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.