



**ŞAP HASTALIĞINDA BAZI ANTIÖKSİDAN
ENZİM VE VİTAMİN DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI**

Bülent BALLI

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Armağan HAYIRLI**

Yüksek Lisans Tezi-2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ŞAP HASTALIĞINDA BAZI ANTIOKSİDAN ENZİM VE
VİTAMİN DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI

Bülent BALLI

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Armağan HAYIRLI

ERZURUM
2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Şap'ın Tanıtımı	2
2.2. Şap'nın Tarihi	2
2.1. Etiyoloji	3
2.4. Duyarlı Hayvanlar.....	4
2.5. Dağılım	5
2.6. Transmisyon.....	7
2.7. İnkübasyon Süresi.....	8
2.8. Patogenez	8
2.9. Klinik Belirtiler.....	9
2.10. Histopatolojik Lezyonlar	12
2.11. Postmortem Lezyonlar	13
2.12. Morbidite ve Mortalite.....	14
2.13. Teşhis	14
2.13.1. Laboratuvar Teşhisi	14
2.14. Kontrol	15
2.15. Ekonomik Etkileri.....	15

2.16. Zoonoz	17
2.17. Oksidatif Stres.....	17
3. MATERYAL VE METOT.....	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Hayvan Materyal.....	20
3.2. Metot.....	20
3.2.1. Namune Toplama.....	20
3.2.1.1. Kan Numunesi	20
3.2.2. Analitik İşlem	20
3.2.2.1. Serum MDA ve C Vitaminin HPLC ile Analizi	20
3.2.2.2. Serum A ve E Vitaminlerinin HPLC ile Analizi	21
3.2.2.3. Serum Total Glutasyon (GSH), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve Süperoksit Dismutaz Analizi	23
3.2.3. Veri Analizi.....	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA.....	28
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
KAYNAKLAR	31
EKLER	37
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	37
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	38
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	39

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında her türlü yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Armağan HAYIRLI'ya en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın yürütülmesi sürecinde yardımlarından dolayı Fırat Üniversitesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Prof. Dr. Cemal ORHAN'a Atatürk Üniversitesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet GÜL, Prof. Dr. Nesrin YILDIZ, Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ, Doç. Dr. Mehmet CENGİZ, Dr. Öğr. Üyesi Akar KARAKOÇ, Arş. Gör. Dr. Emre YILMAZ, Arş. Gör. Dr. Soner UYSAL'a, Aksaray Üniversitesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU'na ve Palandöken İlçe Tarım ve Orman Müdürü Metin YİĞİT ve tüm personeline teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında manevi desteklerini her an hissettiğim anneme, babama yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşim Emine BALLI'ye ve bana huzur veren çocuklarıma sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Bülent BALLI

ÖZET

Şap Hastalığında Bazı Antioksidan Enzim ve Vitamin Düzeylerinin Saptanması

Giriş ve Amaç: Şap (*Apthae epizooticae*), ağız mukozaları ile tırnaklar arasında aft oluşumu ve hidropik dejenerasyonla karakterize, düşük mortalite ve yüksek morbiditeyle seyreden viral bir hastalıktır. Bu ön çalışma “şaplı sığırlarda, antioksidan etkili vitamin rezervleri tükenir ve antioksidan enzimlerin düzeyi azalır” hipotezini test etmek için yapıldı.

Gereç ve Yöntem: Farklı çiftliklerdeki (n = 7) 36 şaplı sığırdan (5 dişi dana, 16 erkek dana, 4 tosun, 3 düve ve 8 sağmal inek) ilk klinik belirtilerin görülmesinden 6-7±3,0 gün sonra ve takiben her 15 günde bir olmak üzere toplam 3 kan örneği alındı. Kontrol grubu için Atatürk Üniversitesi Gıda Hayvancılık, Uygulama ve Araştırma Merkezindeki 39 sağlıklı sığırdan (14 dişi dana, 8 tosun, 8 düve ve 9 sağmal inek) tek kan örneği alındı.

Bulgular: Serumlarda vitamin A, C ve E ile malondialdehit (MDA), total glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ölçüldü. Varyans analiziyle gruplar arasındaki ve hastalık sürecindeki farklılıklar belirlendi. Şap belirtilerinin ilk görüldüğünde ölçülen serum vitamin A (0,635±0,082 vs. 1,003±0,071 µg/ml), vitamin C (0,219±0,039 vs. 0,502±0,031 µg/ml) ve MDA (0,113±0,008 vs. 0,144±0,005 µg/ml) düzeyleri sağlıklı hayvanlardakilere kıyasla daha düşük bulunurken, serum vitamin E (2,035±0,163 µg/ml), GSH (1,764±0,140 µM), GSH-Px (1107±41 U/l) ve SOD (2,00±<0,001 U/l) düzeylerinde fark saptanmadı. Hastalığın 37. gününde serum vitamin C (0,362±0,039 µg/ml), MDA (0,164±0,010 µg/ml) ve SOD (2,00±<0,001 U/l) düzeyleri artarken, serum vitamin A (0,394±0,061 µg/ml), vitamin E (1,659±0,228 µg/ml), GSH (0,577±0,176 µM) ve GSH-Px (587±45 U/l) düzeyleri düştü.

Sonuç: Bulgular, şap hastalığında antioksidan vitamin rezervlerinin tükendiğini, antioksidan enzim düzeylerinin düştüğünü ve oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Şap sürecinde oluşan doku hasarının şiddeti, hayvanlara A ve E vitaminleri uygulanmasıyla azaltılabilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, minarel, sığır, şap, vitamin.

ABSTRACT

Determination of Antioxidant Enzyme and Vitamin Levels in Cattle with Hoof-and-Mouth Disease

Background and Aim: Foot-and-Mouth Disease (FMD) is characterized by painful ulceration and hydropic degeneration inside the mouth and inter-digital region, with a low mortality and a high morbidity. This preliminary study was conducted to test hypothesis that antioxidant vitamin reserves deplete and antioxidant enzyme levels decrease in cattle with FMD.

Materials and Methods: Blood samples were collected from 36 cattle with FMD from 7 farms on 3 occasions: 6-7±3,0 days after first notification of clinical signs and then twice biweekly. For control group, 39 healthy cattle from university farm were bled once.

Results: Serum samples were analyzed for levels of vitamins A, C, and E as well as malondialdehyde (MDA), total glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-Px), and superoxide dismutase (SOD). Group differences and changes during illness were attained using ANOVA. Serum vitamin A (0.635 ± 0.082 vs. 1.003 ± 0.071 $\mu\text{g/ml}$), vitamin C (0.219 ± 0.039 vs. 0.502 ± 0.031 $\mu\text{g/ml}$), and MDA (0.113 ± 0.008 vs. 0.144 ± 0.005 $\mu\text{g/ml}$) levels at FMD outbreak were lower than the control group, but serum vitamin E (2.035 ± 0.163 $\mu\text{g/ml}$), GSH (1.764 ± 0.140 μM), GSH-Px (1107 ± 41 U/l), and SOD ($2.00\pm <0.001$ U/l) levels were not different. On day 37 of FMD outbreak, serum vitamin C (0.362 ± 0.039 $\mu\text{g/ml}$), MDA (0.164 ± 0.010 $\mu\text{g/ml}$), and SOD ($2.00\pm <0.001$ U/l) level increased, whereas serum vitamin A (0.394 ± 0.061 $\mu\text{g/ml}$), vitamin E (1.659 ± 0.228 $\mu\text{g/ml}$), GSH (0.577 ± 0.176 μM), and GSH-Px (587 ± 45 U/l) levels decreased.

Conclusion: Results suggested that antioxidant vitamin reserves depleted, antioxidant enzyme levels decreased, and oxidative stress became severe in FMD. The severity of tissue damage in FMD may be alleviated by administration of vitamins A and E.

Key Words: Antioxidant, cattle, foot-mouth disease, mineral, vitamin.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µl	:	Mikrolitre
A	:	Şap virusu serotipi A (Almanya'nın baş harfi)
ANOVA	:	Analysis of variance
B abortus	:	Brucella abortus
C	:	Şap virusu serotipi C
C₂H₃N	:	Asetonitril
C₂H₅OH	:	Etanol
C₆H₁₄	:	n-hekzan
CH₂Cl₂	:	Diklormetan
CH₄O	:	Methanol
CHCl₃	:	Kloroform
CTO-10ASVP	:	Kolon fırını
DNA	:	Deoksiribo nükleik asit
ELISA	:	Enzim bağlantılı immünosorbent analizi
FMD	:	Foot and Mouth Disease, Şap
FMDV	:	Foot and Mouth Disease Virus, Şap virüs
GPX	:	Glutasyon peroksidaz
GSH	:	Glütasyon
H₂SO₄	:	Sülfirik asit
HClO₄	:	Perklorik asit
HPLC	:	High Performance Liquid Chromatography
KH₂PO₄	:	Potasyum dihidrojen fosfat
LC-20AD	:	Pompa
LSD	:	Least significant difference

MDA	:	Malondialdehit
ml	:	Mililitre
NBT	:	Nitrojen tetrazolium
NO	:	Nitrik oksit
O	:	Şap virusu serotipi O
OIE	:	Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
RNA	:	Ribo nükleik asit
rpm	:	Round per minute
RT-PCR	:	Revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
SAT	:	South African Territories
SIL-20A	:	Otosampler
SOD	:	Süperoksit dismutaz
SPD-20A	:	Dedektör
T annüle	:	Theileria annüle
UV	:	Ultraviyole
VP	:	Viral protein

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. FMDV'nin genom organizasyonu ve virüs yapısı	4
Şekil 2.2. 1990 ve 2002 arasında Şap'nin OIE'ye bildirildiği ülkeler	6
Şekil 2.3. FMDV tip O PanAsian suşunun 1990'da Hindistan'daki ilk ortaya çıkışından 2001'deki Birleşik Krallık'taki görünümünden yayılması. Katı renkler, PanAsian suş mevcut; çapraz çizgili renkler, mevcut O tipi ve PanAsian suşundan şüphelenilen ülkeler	7
Şekil 2.4. Virüslere maruz kaldıktan 3 ila 5 gün sonra domuzlarda şap'a ait yaygın lezyonlar. Lezyonlar koroner bantlar, burun ve dilin arkasında belirgin şekilde görülmemektedir	10
Şekil 2.5. Virüse maruz kaldıktan 6 gün sonra sığırlarda şap'a yaygın lezyonlar. Lezyonlar dil, diş pedi, diş etleri ve ayaklarda belirgindir.	11
Şekil 2.6. A) Aşırı tükürük salgılanması, B) kesilmiş vesikülü dil üzerinde, C) Diş pedi ve diş etlerinde ciddi erozyonlar. Birleşik Krallık 2001 tip O FMD salgını sırasında fotoğraflar çekildi	11
Şekil 2.7. Meme bezlerinde şap lezyonları	12
Şekil 2.8. Koyunda virüs ile inokülasyondan 4 gün sonra şap'ın genel lezyonları	12
Şekil 2.9. Ruminal sütunlar ve kalpte (Kaplan postu-Tiger heart) şap'ın nekropsi lezyonları	13
Şekil 2.10. Şap etkisi	16
Şekil 2.11. E vitaminin yapısı	18
Şekil 2.12. C vitaminin yapısı	19

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 4.1. Sağlıklı ve şaplı ineklerde MDA, E, C ve A vitamin düzeyleri.....	25
Tablo 4.1. Sağlıklı ve şaplı ineklerde MDA, E, C ve A vitamin düzeyleri (devamı) .	26
Tablo 4.2. Sağlıklı ve şaplı ineklerde GSH, GPX ve SOD düzeyleri.	27



1. GİRİŞ

Halk dilinde “dabak” hastalığı olarak bilinen Şap hastalığı ülkemizde epidemik seyreden yaygın bir viral hastalıktır. Büyükbaş ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde ciddi biyolojik verim kaybına ve ekonomik iflaslara neden olabilmektedir. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından ücretsiz olarak yılda 2 defa aşı hizmeti verilmesine rağmen şap hastalığının görülmesinin ana nedeni olarak yurt içinde ve komşu ülkelerden süregelen hayvan hareketliliğinin olmasıdır. Bunun yanı sıra yetersiz immunizasyon, aşılanmayan hayvanların sürüye katılması ve virus tipinin değişmesi ile aşının etkili olmaması da şap hastalığının bölgesel olarak patlak vermesine neden olmaktadır. Şap hastalığının oluşması durumunda ilgili bölgenin karantina altına alınması insan hareketini ve hayvancılık ticaretini olumsuz etkilemektedir.

Şiddetli doku hasarının oluşması, şaplı hayvanların antioksidant kapasitesinin düşmesine ve hastalığı yenme sürecinin gecikmesine ve hastalığın daha meşakkatli geçmesine yol açar. Yerli ırk hayvanların dirençli olması, ithal kültür ırkı hayvanların bağışsız olması hızlı morbidite ile seyreden bu hastalığın yüksek mortaliteyle sonuçlanmasına neden olur. Bu çalışmada şaplı hayvanların antioksidan rezervlerinin tükendiği iddia edilmiştir. Bu amaçla kan serumların antioksidan etkili vitamin ve minerallerin düzeyi ölçülmüştür. Hipotezin doğrulanması şap aşısı adjuvanlarının antioksidan etkili vitamin ve minerallerle zenginleştirilmesinde fayda olacağını önerecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Şap'ın Tanıtımı

Şap (Foot and Mouth Disease, FMD) hayvancılık endüstrisi ve uluslararası ticaret için büyük kayıplara neden olan hayvanların en önemli bulaşıcı viral hastalığıdır. Bu hastalık yüksek kontrol maliyetleri, ticaret üzerinde ciddi etkiler, sık ve yıkıcı büyük ölçekli epidemileri içerir.^{1,2} Şap ayrıca Aphthous Fever olarak da bilinir ve Familya *Picornaviridae* ve Cins *Aphthovirus*'teki *Foot-and-mouth disease virüs*'ünden (FMDV) kaynaklanır.¹ Bu evcil ve yabani çatal tırnak hayvanların bulaşıcı, şiddetli, klinik olarak akut ve veziküler hastalığıdır.^{2,3} I'Office International des Epizooties (OIE; Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü) Şap'ı A sınıfı hastalık olarak sınıflandırmıştır. Yani bu hastalık ülkeler içinde ve arasında büyük ekonomik kayıplara neden olan hızla ve yaygın bir şekilde yayılabilir.³

2.2. Şap'ın Tarihi

Şap'ın klinik varlığının en erken tanınması genellikle Frakastorius'un 16. yüzyıldaki gözlemleri tarafından olmuştur.⁴ FMD'nin patogenezinin anlaşılması, Loeffler ve Frosch'un gösterileri tarafından ortaya konulmuştur.⁵ Loeffler ve Frosch 17 Nisan 1897 ve 12 Ağustos 1898 tarihleri arasında Kültür Bakanlığı'na Şap hakkında farklı raporlar gönderdi. İlk raporlarında, Şap'ın etiyolojik ajanının herhangi bir bakteri olamayacağını söylediler, ikinci raporda, Şap'a karşı aşılamanın mümkün olduğunu ileri sürdüler ve üçüncü raporda ise etiyolojik ajanın en küçük bilinen bakterilere karşı geçirgen olmayan filtrelerin gözeneklerinden geçecek kadar küçük olduğu sonucuna varmışlardır.⁵

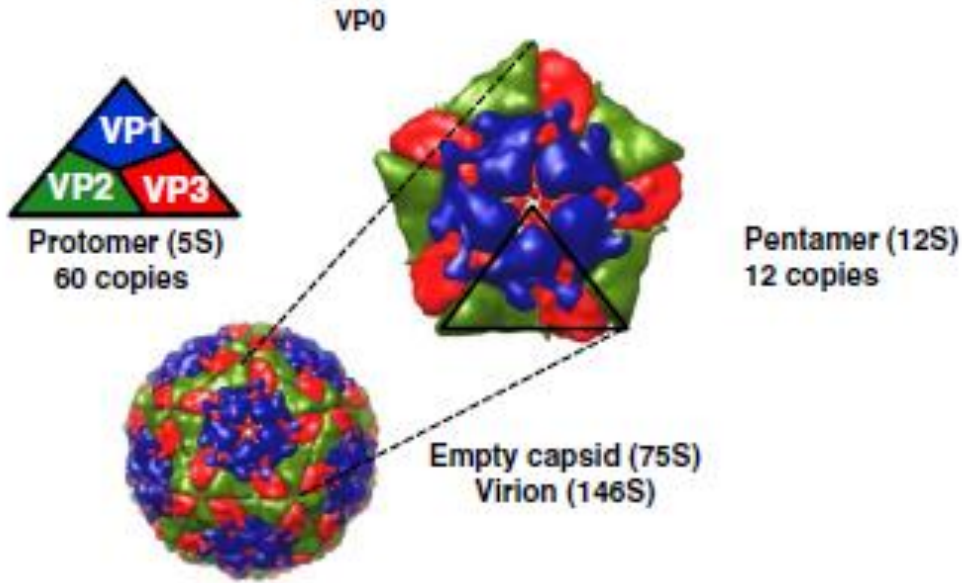
Türkiye'de Şap'ın ilk kaydı 1914'te Osmanlı İmparatorluğu'nun istatistik bölümü tarafından yayınlandı (Osmanlı istatistik İdare-i Umumiyesi). Bu rapora göre 1914 yılında 9455 hayvan Şap'dan muzdarip olmuş ve hasta hayvanların yarısı yaşamını

yitirmiştir.⁶ Türkiye'de dolaşan serotipler hakkında bilgi 1952'de Fransa Alfort Veteriner Araştırma Enstitüsü tarafından sağlanmıştır ve Türkiye'de A4, A5, O ve C' serotipler olduğunu belirtmiştir. Türkiye'de, 21 Temmuz 1957'de Etlik Şap Labortuar'da Şap serotipleri üzerinde ilk çalışma gerçekleştirilmiştir.⁷ Türkiye'de FMD ile ilgili epidemiyolojik veriler 1951'den toplanmaya başlanmıştır.⁶

2.1. Etiyoloji

Şap Familya *Picornaviridae* ve Cins *Aphthovirus*'teki FMDV'ünden kaynaklanır. Bu cinsin tek diğer üyesi, *Equine rhinitis A* virüsüdür. FMDV, 8.4 kb civarında 26 nm çapında ve pozitif sens RNA'lı, zarfsız, ikozahedral bir virüstür. Virüsün genomu 8.500 bazdan oluşur ve kapsidin dört yapısal proteini (401) ile çevrelenir. Kapsid, 60 kopya kapsomerden oluşur ve her bir kapsomer, dört yapısal polipeptit, VP1, VP2, VP3 ve VP4'ten oluşur. FMDV'nin yedi farklı serotipi vardır ve her biri daha çeşitli topotipler, genetik soylar ve farklı türlere sahiptir. FMDV'nin yedi serotipi O, A, C, Güney Afrika Bölgeleri (SAT 1, SAT 2, SAT3) ve Asya1'dir.^{8,9} O ve A serotipleri yaygın olarak dağılır; ancak, SAT 1, SAT 2 ve SAT 3 Afrika ve Asya 1 serotip Asya arasında sınırlıdır.^{2,3} O ve A serotipleri Vallee ve Carre tarafından keşfedildi ve menşei aldığı yere göre adlandırılmışlardır. Asya 1, ilk olarak 1954'te Okara, Pencap, Pakistan'daki su mandalarından toplanan örneklerden tespit edildi (Şekil 2.1.).¹⁰ Bir serotipe karşı bağışıklık, diğer serotiplere karşı çapraz koruma sağlamaz. O serotip, 1990 yılında başlayan ve dünya çapında birçok ülkeyi etkileyen pan-Asya epidemiden sorumludur.¹¹ Ortamda FMDV'nin hayatta kalmasıyla ilgili daha az çalışma mevcuttur, ancak çoğu çalışma üç ay veya daha az süre boyunca canlı kaldığını ve soğuk aylarında virüsün altı aya kadar yaşayabileceğini göstermiştir. Virüs 4C'de hücre kültürü ortamında 1 yıla kadar hayatta kalabilir. Virüs 4C'de yün üzerinde iki aya kadar dayanabilir, ancak virüsün hayatta kalma kabiliyeti sıcaklıktaki artışla azalır. FMD virüs büyükbaş hayvanın dışkısında da iki ay yaşayabilir ve organik madde varlığı virüsün

hayatta kalma şansını artırır. Doğrudan güneş ışığı, virüsün hayatta kalıcılığını azaltır ve 6.5'ten daha az ve 11'den fazla pH virüsün inaktivasyonuna neden olur. Virüs, dondurulmuş lenf düğümlerinde ve kemik iliğinde daha uzun süre hayatta kalabilir.¹¹



Şekil 2.1. Şap'ın genom organizasyonu ve virüs yapısı.

2.4. Duyarlı Hayvanlar

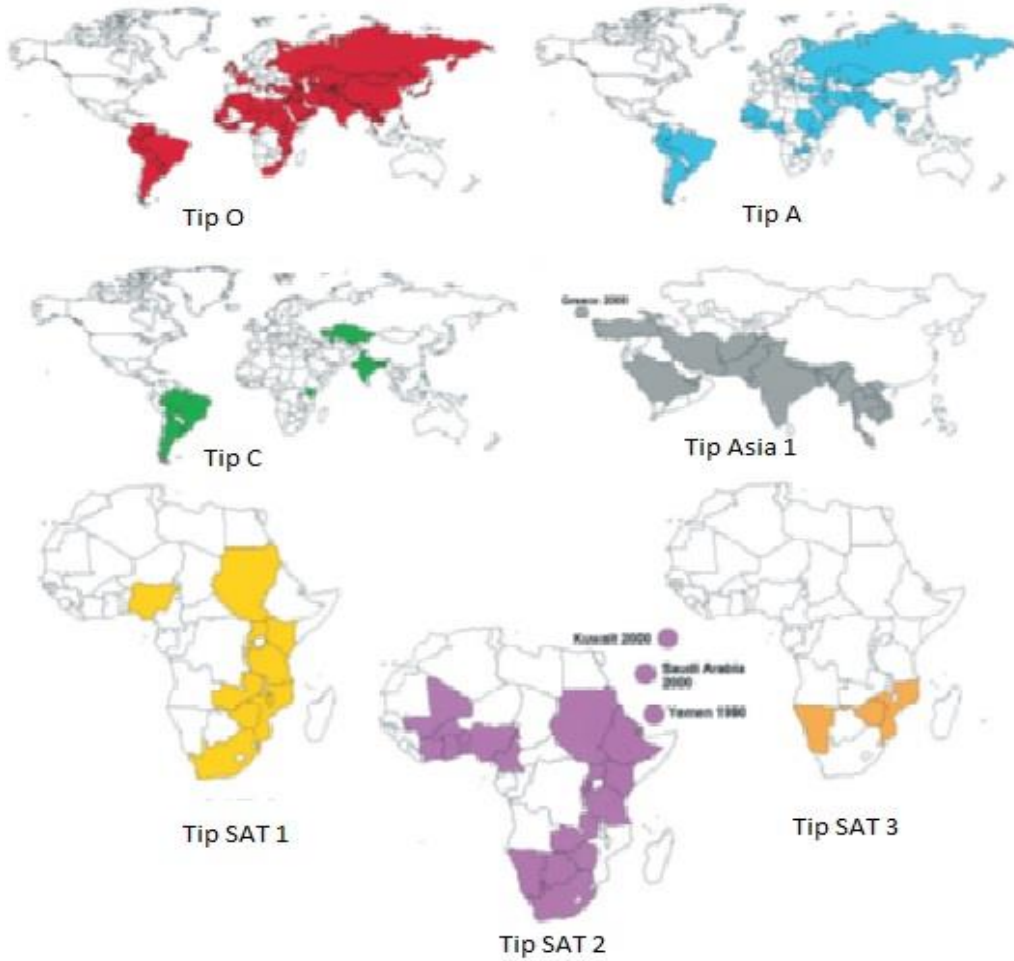
Bu hastalığa duyarlı hayvanların aralığı evcil gevişen, domuz ve daha fazla 70 yaban türünden içerir.¹² FMD virüsü, Artiodactyla (cloven-memeli memeliler) düzenindeki hayvanların çoğuna bulaşır. Her bir hayvan türü, enfeksiyona, klinik hastalığa ve virüsü diğer hayvanlara iletme kabiliyetine bağlı olarak değişir. Hayvancılıkta, sığır, domuz, koyun ve keçiler bu hastalığa karşı hassastır. Lamalar, alpaka ve develer bu hastalıktan deneysel olarak etkilenebilir, ancak doğal koşullar altında bu hayvanlar bu hastalığa karşı duyarlılık göstermez. Yaban hayvanlarda, Afrika

mandası, bizon, geyik, güderi, zürafalar, afrika antilobu, karatavuk, yaban domuzu, kunduz, impala, antilop ve ceylanın çeşitli türleri bu hastalığa karşı hassastır. Bu hastalığa karşı duyarlı çatal tırnak olmayan hayvanlar, kirpi, armadillolar, kangurular, şu samuru, kapiller, kobay fareler, sıçanlar ve farelerdir.¹¹

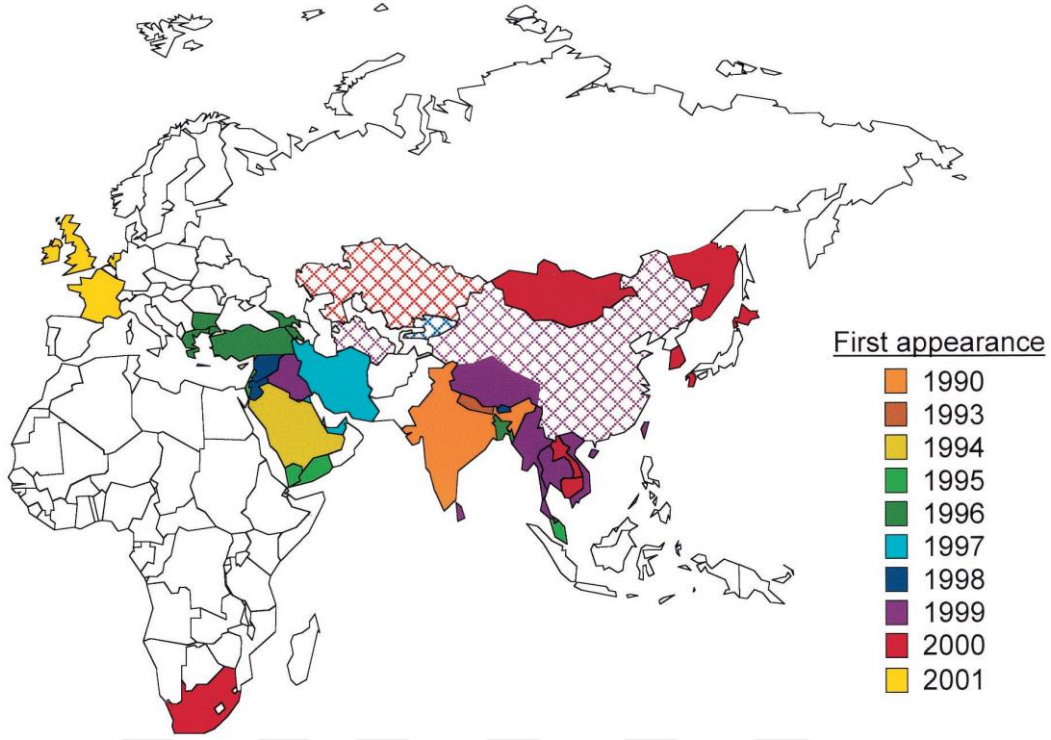
2.5. Dağılım

Şap eskiden dünya çapında yaygındı fakat daha sonra Kuzey Amerika ve Avrupa'nın çoğu bölgesi gibi bazı alanlarda bu hastalık eradike edildi. Bu hastalık meydana geldiğinde farkedilmezse hızla farklı bölgelere yayılabilir. Bu hastalık Asya, Afrika, Orta Doğu ve Güney Amerika'nın çoğu bölgesinde endemiktir. Afrika'da bu hastalığın ortadan kaldırılması olanaksızdır çünkü virüs yaban Afrika mandalarında kalmaktadır. Kuzey Amerika, Yeni Zelanda, Avustralya, Grönland, İzlanda ve Avrupa'nın çoğu bu hastalıktan aridir. ABD'de bu hastalığın son epidemisi 1929'da meydana gelmiştir.¹¹ Bu hastalığın sınırlarını geçme potansiyeline sahip olması ve daha önce FMD içermeyen ülkelerde epidemilere neden olma potansiyeli vardır, 2001'de İngiltere ve kıtasal Avrupa salgınları ve 2001'de Japonya ve Güney Kore'de salgın gibi.¹³ Bu hastalığın salgınları, Yeni Zelanda hariç dünyanın her bölgesinde meydana gelmiştir ve hastalık şu anda Avustralya ve Kuzey Amerika dışındaki tüm ülkelerde enzootic durumdadır (Şekil 2.2.) ve (Şekil 2.3.).⁹ Daha önce hastaliksız olan Japonya ve Güney Kore'de 2010 yılında, FMDV soyu O / Asya / Maya-98'in neden olduğu şiddetli salgın hastalıklar olmuştur. Şap yönünden pozitif bir yaban domuzu 2011 yılında Bulgaristan'da bulundu ve daha sonra salgın FMDV O / ME-SA / PanAsia2 tarafından meydana geldi ve ondan önce Bulgaristan'da bu hastalık 1996 yılında da meydana gelmiştir. 2012 yılında, Şap salgınları Mısır ve Filistin'de FMDV SAT2 tarafından meydana getirildi. FMD, Hindistan'da endemiktir, ancak 2008 yılında O / ME-SA / Ind-2001'in yeniden oluşması gerçekleşti. Normal olarak, bu soy Hindistan, Bangladeş, Nepal ve Butan ile sınırlıdır; ancak, 2013 yılında bu soy Suudi Arabistan ve Libya'da da

bulundu ve bu soydan dolayı 2014-15'te Tunus ve Cezayir'de birçok salgın meydana gelmiştir.⁸



Şekil 2.2. 1990 ve 2002 arasında Şap hastalığını OIE'ye bildirildiği ülkeler.



Şekil 2.3. Şap'ın tip O PanAsian suşunun 1990'da Hindistan'daki ilk ortaya çıkışından 2001'deki Birleşik Krallık'taki görünümünden yayılması. Katı renkler, PanAsian suş mevcut; çapraz çizgili renkler, mevcut O tipi ve PanAsian suşundan şüphelenilen ülkeler.

2.6. Transmisyon

Bu hastalığın virüsü, enfekte hayvanların hemen hemen her türlü salgısında bulunur. Örneğin; soluduğu havada , tükürük, idrar, süt, sperm ve dışkı. Bu virüs ayrıca veziküllerde de büyük miktarlarda bulunur ve vezikül rüptürlerinde pik transmisyon gerçekleşir. Hayvanlar, semptomların başlamasından dört gün önce virüsü yaymaya başlarlar ve hastalıktan kurtulduktan sonra bile bu virüsün taşıyıcısı olarak daha uzun süre kalırlar. FMDV koyunda dokuz ay, keçilerde dört ay ve sığırlarda altı ay veya daha az süre kalır ama bazı hayvanlarda hastalık 3,5 yıla kadar devam etmektedir.¹¹ Bu virüsün farklı yollarla bulaşma yolları vardır ve bu bulaşma yolunun duyarlılığı hayvanların türleri ile değişkenlik gösterir. Transmisyon yolu genel olarak direkt ve indirekt olarak sınıflandırılmıştır. Direkt transmisyon yolunda, virüs bir hayvandan

diğerine direkt temas yoluyla iletir. Direkt temas halinde virüs, bir hayvandan diğerine mekanik olarak kesik ve aşınma yoluyla olduğu gibi solunum yoluyla da olabilir. Virüsün hava yoluyla transferi aerosol transmisyon olarak bilinir. Virüsün aerosol transmisyonu uzak yerlerde bile oluşabilir. Örneğin; 1981'de virüs enfekte sığırdan 250 kilometre uzaklıkta bir mesafe seyahat ederek Brittany'den Fransa 'da bulunan Wight adasında ki hayvanları enfekte etmiştir (Şekil 2.6.).¹⁴ FMDV'in SAT serotiplerin cinsel transmisyon Afrikalı Buffalo'larda gözlenmiştir. İndirekt yoluyla virüsün transmisyonu, bulaşık personel, araçlar, fomit ve besleme yoluyla oluşur. Koyun kırpma, parazitler için aşı yapılması, kuzulama, klinik muayene ve kan örneklemeside virüsün endirekt olarak transmisyona neden olabilir. Domuzlar, virüsün aerosol transmisyonuna daha az duyarlıdır, ancak, aerosol yoldan büyük miktarda virüs bulaşabilir. Buna karşın sığırlar daha az virüsü nefes alarak yayarlar, ancak aerosol yol ile hastalanmaya daha yatkındırlar. Bu nedenle, çoğu durumda hastalık domuzlardan sığırlara yayılmıştır. Koyun aynı zamanda hastalık bulaşının aerosol yoluna da duyarlıdır, ancak hastalığın klinik belirtilerini daha az gösterir ve aynı zamanda birçok salgında virüsü yaymada rol oynar.³ Sonuç olarak, sığırlar ve koyunlar, aerosol yolu ile FMDV ile enfekte olurken domuzlar, deri lezyonları veya salgıları olan diğer hayvanlarla beslenerek veya doğrudan temasla enfekte olurlar.³

2.7. İnkübasyon Süresi

Sığırlarda, FMDV'ün inkübasyonu, virüs dozu ve enfeksiyon yoluna bağlı olarak 2 ila 14 gün arasında değişir. Domuzlarda, inkübasyon süresi 2 gündür, ancak 18-24 saate kadar da düşebilir oysa koyundaki inkübasyon süresi 3 ila 8 gündür.¹¹

2.8. Patogenez

Virüs bulaşmasından sonra, akciğerde veya faringeal alanlarda çoğalması virüsün oral ve pedal epitelyal bölgelere hızlı yayılması ile gerçekleşir. Aerosol yol ile deneysel olarak enfekte edilen sığırlarda virüs 24 saat içinde, solunum bronş epitelinde,

alt epitelyumda ve akciğerlerin interstisyel alanlarında mevcut olduğu gözlenmiştir. Şap virüsünün 72 saat içerisinde dil, yumuşak damak, ayak, bademcik ve trakeobronşiyal lenf nodlarının epitel hücrelerinde viral belirtiler tespit edilmiştir. Bazı çalışmalar, farinksin akciğerler yerine viral replikasyon yeri olduğunu göstermiştir.⁹

2.9. Klinik Belirtiler

Şap, ayaklarda, ağızda ve meme bezinde vesiküler lezyon, ateş ve topallık ile karakterizedir. Nadiren, vulva, prepus ve bacakların basınç noktalarında lezyonlar görülür. Çoğunlukla veziküller formasyondan sonra veziküller hızla kopar ve ağrıya ve rahatsızlığa yol açan erozyonlar oluşturur. Ağrı ve rahatsızlık depresyon, anoreksiya, aşırı tükürük, hareket etme veya ayağa kalkmada isteksizlik gibi çeşitli semptomlara neden olur. Lezyonlar koroner bantda ve interdijital boşlukta da görülebilir ve bazen toynakların açılması da meydana gelebilir.¹¹ Ayaklarda ve meme bezlerindeki lezyonlar açılabilir ve bu durum hayvanlarda sekonder enfeksiyona neden olarak iyileşme sürecini geciktirir ve durumu komplike hale getirir. Lezyonların yaşı, aşağıdaki belirlenen kriterlere göre gelişim aşamaları incelenerek değerlendirilebilir: 0. günden 2. güne kadar veziküllerin gelişimi; 1–3. günlerde veziküllerin rüptürü (başlangıçta epitelyum parçaları eklenmiş); keskin bir şekilde aşınmış erozyon (2–3 gün); 3. günden itibaren keskinlik kaybolur; 4-6. günde serofibrinöz eksudasyon görülür ve 7 veya daha fazla günde fibröz doku marjı ile tamir başlangıcıdır. Sığırlarda genel olarak belirgin olan klinik bulgular yüksek ateş, hipersalivasyon, dil, diş pedi, diş etleri, yumuşak damak, burun delikleri ve ağızda lezyonlar içerir. Keçi ve koyunlarda klinik bulgular sığır ve domuzla karşılaştırıldığında daha az şiddetlidir.³ FMDV plasentaya geçmez, ancak enfekte hamile hayvanlarda abortus gerçekleşir. Dildeki veziküller sıklıkla birleşir, hızla kopar ve çok acı verir ve hayvan yemek için isteksiz olur. Bol salivasyon ve burun akıntısı yaygındır; burun akıntısı ilk başta mukoid olurken sonrasında mukopurulente dönüşür. Bu hastalık ile enfekte olan hayvanlarda süt üretiminde geçici veya kalıcı

azalma, mastitis, kronik topallık ve kilo kaybı gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Genç hayvanlarda vezikül oluşumu olmadan multifokal miyokardit nedeniyle ölüm görülür.¹¹ Bu olgularda kalbin makroskopik muayenesi, genellikle sol ventrikül ve interventriküler septumda beyaz veya gri çizgiler (“kaplan postu ” olarak adlandırılan) veya lekelerle beraber yumuşak ve sarkık bir kalp görülür (Şekil 2.4.), (Şekil 2.5.) ve (Şekil 2.8.).³ Meme bezlerinde şap lezyonları (Şekil 2.7.) ve Ruminal sütunlar ve kalpte (Kaplan postu-Tiger heart) şap’ın nekrops lezyonları (Şekil 2.9.) gösterilmiştir.⁵²



Şekil 2.4. Virüslere maruz kaldıktan 3 ila 5 gün sonra domuzlarda Şap'a ait yaygın lezyonlar. Lezyonlar koroner bantlar, burun ve dilin arkasında belirgin şekilde görülmektedir.



Şekil 2.5. Virüse maruz kaldıktan 6 gün sonra Şap hastalığında yaygın lezyonlar. Lezyonlar dil, diş pedi, diş etleri ve ayaklarda belirgindir.



Şekil 2.6. A) Aşırı tükürük salgılanması, B) Kesilmiş vesikülü dil üzerinde, C) Diş pedi ve diş etlerinde ciddi erozyonlar. Birleşik Krallık 2001 tip O Şap hastalığı salgını sırasında çekilen fotoğraflar.



Şekil 2.7. Meme bezlerinde Şap lezyonları.



Şekil 2.8. Koyunda virüs ile inokülasyondan 4 gün sonra Şap'ın genel lezyonları.

2.10. Histopatolojik Lezyonlar

Şap hastalığının erken dönemindeki lezyonları sadece mikroskopik olarak görülebilir ve enfeksiyonun bu fazı sırasında cilt dıştan normal görülmesine karşın bol miktarda virüsü barındırır.¹⁵⁻¹⁷ FMDV'den etkilenen hayvanların başlangıç evresinde değişiklikleri; kornifiye, tabakalı skuamöz epitelyumun balonlanma dejenerasyonu ve stratum spinosumun sitoplazmik eozinofilik stanlansı ve dermiste ödem başlangıcıdır.¹⁵

¹⁷ Daha sonra nekroz, mononükleer hücre ve granülosit infiltrasyonu meydana gelir ve bu aşamadan sonra lezyonlar makroskopik olarak görülebilir. Dahası bu lezyonlar, epitelyumun altta yatan dokudan ayrılması ve kavitenin vesiküler sıvıyla doldurulmasıyla veziküllere dönüşür.³

2.11. Postmortem Lezyonlar

Tek veya çoklu sıvı dolu 2 mm ile 10 cm çapındaki vesikül veya bullaların varlığı, şapın karakteristik lezyonlarıdır. Başlangıçtaki lezyonlar küçük soluk alanlar veya küçük veziküller olarak tespit edilebilir ve daha sonra bazı veziküller birleşerek bulla oluşturabilir. Genellikle veziküller kısa süre kalır ve sonrasında yırtılarak kırmızı, aşınmış bölgeler veya ülserler oluşturur. Bundan sonra bu erozyonlar gri fibröz kaplama ile kapanır. Sığırlarda, en sık ağız boşluğu içinde veziküller görülürken, domuzlar, koyunlar ve keçilerde lezyonlar topuk, koroner bant ve interdigital boşlukta görünür. Lezyonlar ayrıca meme başı veya memede, bacakların bası noktaları, ruminal sütunlar, prepus ve vulvada da görülebilir. Genç hayvanlarda kalp dejenerasyonu ve nekroz nedeniyle kalp kasında gri veya sarı çizgiler görülebilir ve bu lezyonlar kaplan postu görünümlü kalp (Tiger Heart) lezyonu olarak adlandırılır.¹¹



Şekil 2.9. Ruminal sütunlar ve kalpte (Kaplan postu-Tiger heart) Şap'ın nekropsisi lezyonları.

2.12. Morbidite ve Mortalite

Bu hastalığın morbidite oranları, doğal popülasyonlarda % 100 kadar yüksek olabilir ve sekel, düşük süt üretimi, geri dönüşümsüz toynak hasarı ve kronik mastiti içerebilir. Şap'ın genç hayvanlarda mortalite oranları yüksektir ama ergin hayvanlarda ölüm oranları % 1'dir. Şap'tan dolayı kuzularda % 40-94 mortalite bildirilmiştir.¹¹

2.13. Teşhis

Şap tanısı, duyarlı hayvana göre değişen klinik belirtiler ve semptomların varlığında yapılabilir ama ağız boşluğunda veya ayaklarda, meme başlarında veya başka bir bölgede vezikül ve erozyonların varlığı, bu hastalığa işaret etmektedir. Oral lezyonların varlığı, bol miktarda salıvasyon ve topallığa sahip sığırlar hastalık olduğundan incelenmelidir. Domuzlar ve koyunlarda hipersalivasyon nadirdir, ancak bu hayvanlarda topallık şap'ın daha tipik bir semptomudur. Genç hayvanların ani ölümü meydana gelirse, ergin hayvanların şap lezyonlarının varlığı açısından incelenmesi gerekir çünkü genç hayvanlar ağız lezyonları göstermeden ölebilir. Şap'ın ayırıcı tanısı sığır vebası, enfeksiyöz sığır rinotrakiti, BVD, koriza ve epizootik hemorajik hastalık yönünden yapılmalıdır. Çünkü tüm bu hastalıklarda sığırlarda oral lezyonlar görülür. Koyunlarda, şap'ın lezyonları mavı dil, bulaşıcı ektima ve dudak ve bacak ülserasyonları ile karıştırılabilir.¹¹

2.13.1. Laboratuvar Teşhisi

Şap'ın laboratuvar tanısı, virüs izolasyonu, viral antijenlerin saptanması veya nükleik asit ve seroloji ile yapılabilir. FMDV, enzim bağlantılı immünosorbent analizi (ELISA), kompliman fiksasyon ve revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile hücre kültürlerinde tanımlanabilir. Virüsün serotipleri de ELISA veya RT-PCR ile tanımlanabilir.¹¹

2.14. Kontrol

Şap'ın salgınları genellikle karantina ve hareket kısıtlamaları, etkilenen ve temas halindeki hayvanların ötenazi ve etkilenen bina, ekipman ve araçların temizlenmesi ve dezenfeksiyonu ile kontrol edilir. Etkili dezenfektanlar arasında sodyum hidroksit (% 2), sodyum karbonat (% 4), sitrik asit (% 0.2) ve Virkon-S bulunmaktadır.[®] İyoforlar, kuaterner amonyum bileşikleri, hipoklorit ve fenoller özellikle organik madde varlığında daha az etkilidir. Enfekte karkaslar, yakma, oluşturma, gömme veya diğer tekniklerle güvenli bir şekilde imha edilmelidir. Enfekte ineklerden elde edilen süt, 20 dakikadan fazla bir süre boyunca 100 °C'ye ısıtılarak inaktive edilebilir. Kemirgenler ve diğer vektörler, virüsün mekanik olarak yayılmasını önlemek için öldürülebilir. Virüsün girmesini önlemek için, enfekte olmamış çiftliklerde iyi biyogüvenlik önlemleri uygulanmalıdır. Aşılama, bazı salgınlar sırasında FMDV'nin yayılmasını azaltmak veya spesifik hayvanları korumak için kullanılabilir. Aşı kullanımı kararı karmaşıktır ve salgına özgü bilimsel, ekonomik, politik ve toplumsal faktörlere göre değişir. Güney Afrika'daki vahşi yaşamdan FMDV transmisyonu, evcil hayvanlardan çitlerle yabancı hayvanları ayırarak ve çiftlik hayvanlarının aşılamaıyla kontrol edilir.¹¹

2.15. Ekonomik Etkileri

Şap, dünya çapında hayvan ve hayvan ürünlerin ticaretini sınırlar ve ekonomiyi ciddi şekilde etkiler.¹⁸ Düşük mortalite hastalığı olmasına rağmen, şap hastalığının etkisi şiddetlidir çünkü büyük sayılarda hayvanlar bu hastalıktan etkilenir. Bu hastalığın etkisi iki bileşene ayrılabilir: (1) azalan üretim ve sürü yapısındaki değişiklikler nedeniyle direkt kayıp; ve (2) şap'ın kontrolünde maliyetin yükselmesinden dolayı kayıplar, piyasalara kötü erişim ve gelişmiş üretim teknolojilerinin sınırlı kullanımınıdır. FMD 'nin tahmini yıllık etkisi, endemik bölgelerde görülebilir üretim kayıpları ve aşılama açısından tek başına 6.5 ila 21.000.000.000 \$ arasında hesaplanır. Ayrıca, önceden şap olmayan ülkeler ve bölgelerde salgınlar yılda 1,5 milyar \$ ABD Doları

kaybına neden olur.¹⁹ Direkt ve indirekt olarak milyarlarca ABD dolarının ekonomik kayıpları nadir değildir.¹¹ 2001 UK epidemin tahmini direkt kaybı yaklaşık 2.750.000.000 pound civarında olurken tarım ticareti ve turizm ticareti gibi kayıplar da dahil ek olarak 5.250.000.000 pound tahmin edilmektedir.³ Şap etkisi (Şekil 2.10.).²⁰



Şekil 2.10. Şap etkisi.

2.16. Zoonoz

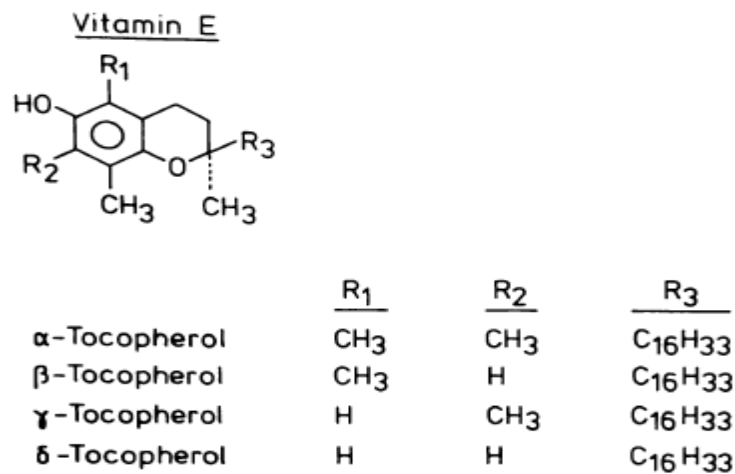
Şap bir zoonotik hastalık olduğundan dolayı insanları etkileyebilir ama bu hastalığın insanlara geçmesi çok nadirdir ve insan sağlığı için herhangi bir tehdit sunmaz. Son yüzyılda şap virüsü 40' tan fazla insanda izole olmamıştır. İnsanlarda virüsün inkübasyon süresi 2-6 gündür ve el, ayak ve bazen ağızda veziküller ve boğaz ağrısı semptom olarak gözlenebilir. Virüsün transmisyonu enfekte hayvanlar ile direkt temas yoluyla veya havadaki viral partiküllerin inhalasyondan oluşur.²¹

2.17. Oksidatif Stres

Aerobik metabolizma DNA, protein, karbonhidratlar ve lipidler gibi biyolojik moleküllere zarar verebilecek reaktif oksijen türlerinin üretilmesi ile ilgilidir. Bu reaktif oksijen türleri hidroksil radikali, nitrik oksit radikali, hidrojen peroksit, singlet moleküler oksijen, hipoklorit, süperoksit anyon radikali ve peroksinitrit içerir. Bu reaktif oksijen türleri, antimikrobiyal savunma, inflamasyon, karsinogenez, radyasyon hasarı, patobiyolojik etkiler ve yaşlanma gibi çeşitli durumlarda rol oynarlar.²² Reaktif oksijen türleri, normal koşullar altında vücudun antioksidan savunma sistemi ile nötralize edilir, ancak serbest radikallerin üretimi ile antioksidan sistem ile nötralizasyonu arasındaki denge bozulduğunda oksidatif stres oluşur. Isı, kimyasallar ve patojenler gibi farklı tür stresörler, serbest radikallerin oluşumunu başlatır.²³ Serbest radikaller lipid peroksidasyonunu indükler ve bu işlemin son ürünü malondialdehit (MDA)'dır. Malondialdehid, lipit peroksidasyonu ve prostaglandin biyosentezi sırasında üretilen mutajenik ve karsinojenik bir ajandır.²⁴ Çoklu doymamış yağ asidi oksijenasyonunun son ürünü olduğundan, lipit peroksidasyonunu veya oksidatif stresi ölçmek için güvenilir ve yaygın olarak kullanılan bir biyomarkerdir.²⁵ MDA düzeyi, lipid peroksidasyon düzeyini, oksidatif stres düzeyini ve serbest radikal seviyesini indirekt olarak gösterir.^{26,27} Bu aldehit oldukça toksiktir ve sadece oksidatif stresin bir

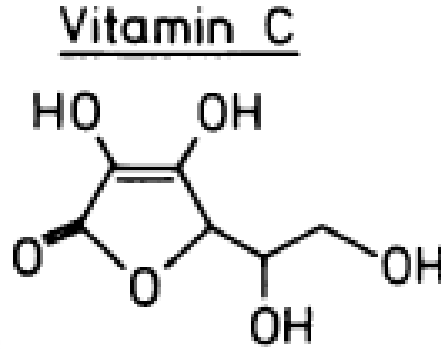
belirtecinden daha fazlası olarak düşünölmelidir. MDA, DNA ve proteinlerle etkileşirken mutajenik ve aterojenik aktiviteye neden olur.²⁸

Aksine, antioksidanlar, farklı süreçler sırasında ortaya çıkan serbest radikalleri temizleyerek vücudu oksidatif strese karşı korur. Antioksidanlar DNA hasarını azaltır, lipid peroksidasyonunu azaltır ve invitro çalışmaları sırasında malign transformasyonu inhibe eder. Antioksidan sistem iki tip enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sisteme ayrılır. Enzimatik olmayan antioksidanlar sistemi ayrıca suda çözünür ve lipid çözünebilir antioksidanlara ayrılır. Suda çözünebilir antioksidanlar arasında vitamin c, glutatyon, ürat ve bilirubin bulunurken, lipid çözünebilir antioksidanlar arasında E vitamini, karoten, likopen ve zeaksaten bulunur (Şekil 2.11.).²² E vitamini, oksidatif strese karşı vücudun korunmasında çok önemli rol oynayan birincil lipid çözünebilir antioksidandır.²⁹ E vitamini terimi, RRR-a-tokoferolün en fazla ithal edildiği tokoferol ve tokotrienoller gibi çeşitli bileşikleri içerir.²² Alfa tokoferol, lipidleri, hidrojen vererek lipid peroksidasyonuna karşı korur. E vitamini, hücre zarlarında antioksidan olarak görev yapar.³⁰



Şekil 2.11. E vitaminin yapısı.

C vitamini suda çözünebilen ve hücre dışı sıvıların en önemli antioksidanıdır L-askorbik asit olarak bilinir. Süperoksit, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikal ve peroksit radikali gibi serbest radikallerin mükemmel bir temizleyicisidir (Şekil 2.12.).²² Glutasyon ile C vitamini, hücrelerin sitoplazmasının aktif antioksidanlarıdır.³⁰



Şekil 2.12. C vitaminin yapısı.

Çeşitli hastalık ve patolojik koşullarda serbest radikaller lipid peroksidasyon ve oksidatif stres mekanizmaları ile doku hasarına neden olur.^{31,32} O yüzden oksidatif stres, birçok kronik hastalığın etiyopatogenezi ile ilişkilidir ve yaşlanma sürecinde önemli bir rol oynar. Çoğu zaman oksidatif stresin biyolojik hedefi lipidlerin oksidasyondur ve bu oksidasyon lipid peroksidasyonu olarak bilinir.²⁸ MDA'nın oksidatif stresin belirteci olarak kullanımı arttıkça, farklı hastalıklarla lipid peroksidasyonunun rolünün araştırılması için de ilgi artmaktadır.³³ Bundan başka antioksidanlar DNA hasarını, lipid peroksidasyonunu azaltır ve *in-vitro* çalışmaları sırasında malign transformasyonu inhibe eder. Dahası, antioksidanlar doğrudan belirli kanserlerin ve dejeneratif hastalıkların azalmasıyla ilişkilidir.²² Bu çalışmanın amacı sağlıklı ve şaplı ineklerin oksidan (MDA) ve antioksidanlarını (E vitamin, C vitamin A vitamin, GSH, GPX ve SOD) karşılaştırmaktır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyal

Farklı çiftliklerdeki (n = 7) 36 şaplı sığırdan 5 dişi dana, 16 erkek dana, 4 tosun, 3 düve ve 8 sağmal inek deneme grubu için seçildi. Kontrol grubu için Erzurum Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi bünyesindeki Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Birimi Süt Sığırcılığı Ünitesi'nden 39 sağlıklı sığırdan 16 dişi dana, 8 tosun, 8 düve ve 9 sağmal inek çalışmaya dahil edildi.

3.2. Metot

3.2.1. Namune Toplama

3.2.1.1. Kan Numunesi

Deneme gruptaki hayvanların ilk klinik belirtilerin görülmesinden 6-7±3,0 gün sonra ve takiben her 15 günde bir kan örneği ve kontrol grubundaki hayvanlardan tek kan örneği vena jugularisten alınarak içinde katkı maddesi bulunmayan vaküeynerlerde (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA) toplandı. Numuneler 3000 g ve 20 °C'de 15 dak santifüj (Rotina 35R, Hettich Zentrifugen, Tutlingen, Germany) edilerek serumları ayrıldı ve endroff tüplere konuldu (Isolab Laborgeräte GmbH, Wertheim, Germany).

3.2.2. Analitik İşlem

3.2.2.1. Serum MDA ve C Vitaminin HPLC ile Analizi

Serum örneklerinin malondialdehit ile C vitamini düzeyleri Karatepe'nin bildirdiği metoda istinaden tespit edildi.³⁴ Serum numunelerinden 1,5 ml miktarlı mikrosantrifüj tüpleri içerisine 400 µl konuldu. Numunelerin üstüne 300 µl 0,5 M HClO₄ ilave edilerek vorteksenerek karıştırılıp santrifüjleme işlemi yapıldı. Homojenatların süpernatant kısmı özenle viallere konularak numunelerin ekstraksiyonu yapıldı. Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması, işlemlerde kullanılmak için C vitamininin

analizinde (L(+)-Ascorbicacid %99,7, Merck, Almanya), MDA analizinde (1,1,3,3-tetraethoksi-propan, Sigma-Aldrich, Almanya) standartları yapıldı. Tetraethoksi-propan kimyasalından 10 µl miktarda kullanılarak 10 ml seviyesine kadar kapaklı cam tüpe konuldu. Miktarı 0,1 M hydrochloric asit kimyasalından (HCl, %37, Merck, Almanya) ve 10 ml miktarında eklendi. Benmari düzeneğinde (Memmert, Almanya) 5 dk ve 100 °C' sıcaklığında kapağı kapalı bir düzende işlem edildi ve soğutulurak 100 ml hacime ultra saf su eklendi. Hazırlanan karışım 2,92 µg/ml MDA bulunmaktadır.³⁴ C vitamininin standartlarında % 5'lik HClO₄ kullanılarak oluşturuldu. Standartlardaki yeterli miktarlarda dilüye işlemi ile dört birimli kalibrasyonlar yapılması amacı ile viallere konuldu. Numuneler ultraviyole (UV) dedektör (SPD-20A), pompa (LC-20AD), otosampler (SIL-20A) ile kolon fırını (CTO-10ASVP) cihazlarında bulunan azami işlemli sıvı kromatografisi (High Performance Liquid chromatography, HPLC) ünitesinde (Shimadzu, Japonya) LC Solution (LabSolution LCsolution Release 1.21) paket işlemi kullanıldı. MDA ile C vitamininin numunelerinde kolon için C₁₈ (ODS-3, 5µm, 4,6 x 250 mm, Inertsil, GL Sciences, Japonya), hareketli faz olması için de pH: 3,6 olacak şekilde ayarlanmış 30 mM potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄, Merck, Almanya) – metanol (CH₄O, Sigma-Aldrich, Almanya) bileşimi (% 82,5–17,5; v/v) hazırlandı. Analiz koşulları için; kolon fırınının derecesi 30 °C, hareketli faz akış zamanı 1 ml/dk, enjeksiyon miktarı 30 µl, dalga uzunluğu 250 nm ile analiz zamanı 10 dk sürecek şekilde hazırlandı. Numunelerde MDA ve C vitamininin alıkonma zamanı sırasıyla ortalama 5. ile 3,4. dakikalar olacak biçimde hazırlandı. Serum analizindeki MDA ve C vitamini seviyeleri µg/ml olarak belirlendi.

3.2.2.2. Serum A ve E Vitaminlerinin HPLC ile Analizi

A ile E vitaminleri yağ içerisinde çözülebilen vitaminler olduğundan dolayı serum örnekleri belirtilen yöntemlerde küçük değişiklikler yaparak analiz yapıldı. (35; 3637) Etanol (C₂H₅OH, % 99,8 Riedel, Almanya) içinde % 0,2 sülfirik asit (H₂SO₄, %

95, Merck, Almanya) ile % 0,02 BHT içerecek miktarda ekstraksiyon sıvısı oluşturuldu. Serum numunelerinden mikrosantrifüj tüplerine 300 µl olacak şekilde üstüne proteinleri çöktürmek amacı ile 500 µl ekstraksiyon sıvısı üzerine konuldu. Numuneler uygun şekilde vortekslenip üstüne 300 µl n-hekzan (C₆H₁₄, % 95, Riedel, Almanya) iave edilerek bir daha vorteksle işlem yapıldı. Numuneler 4 °C'de 5000 rpm devir hızında 10 dk süresince santrifüj edilip daha sonrasında üst hekzan fazı 5 ml miktarlı ince cam tüplere konuldu. Numunelerin üstüne 300 µl n-hekzan konularak işlem üç defa yenilendi. Benzer tüpde biriktirilen hekzan fazları azot gazının alt tarafında uçurulma işlemi yapıldı. Cam tüpdeki kalıntı 100 µl metanol (CH₄O, Sigma-Aldrich, Almanya) ile çözülme işlemi yapılarak numuneler mikro viallere konuldu. Bütün ekstraksiyon aşamaları buz üstünde, numuneler ışıktan korunularak yapıldı. A vitamininin (all trans-Retinol, Sigma-Aldrich, Almanya) ile E vitamininin ise (DL-α-Tocopherol, Merck, Almanya) HPLC standartları metanol içinde hazırlanılarak konsantrasyon işlemlerinde kalibrasyon yapıldı. Vitaminler analiz işlemlerinde, UV-dedektör (SPD-20A), pompa (LC-20AD), otosampler (SIL-20A) ile kolon fırını (CTO-10ASVP) üniteleri bulunan HPLC makinasında LC Solution paket programı kullanıldı. Vitaminlerdeki analiz işlemleri C₁₈ kolonda (ODS-3, 5µm, 4,6 x 250 mm, Inertsil, GL Sciences, Japonya) asetonitril (C₂H₃N, Sigma-Aldrich, Almanya), metanol (CH₄O, Sigma-Aldrich, Almanya), diklormetan (CH₂Cl₂, Sigma-Aldrich, Almanya), kloroform (CHCl₃, Sigma-Aldrich, Almanya) ile n-hekzan (C₆H₁₄, % 95, Riedel, Almanya) bileşiminden (% 60:10:15:10:5) meydana gelen hareketli faz beraberinde meydana getirildi. Analizdeki koşulları; kolon fırınının ısısı 40 °C, hareketli faz akışdaki süresi 1 ml/dk, enjeksiyon miktarı 50 µl, dalganın boyu A vitamininde 326 nm, E vitamininde 296 nm miktarında analiz zamanı 10 dk süresi biçimde hesaplandı. Bekletilme zamanları A ile E vitaminlerinde sırasıyla ortalama 3,8. ve 6,1. dakikalar olacak şekilde tespit edildi. Vitamin seviyeleri serum numunelerinde µg/ml olarak sunuldu.

3.2.2.3. Serum Total Glutasyon (GSH), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve Süperoksit Dismutaz Analizi

SOD enzim aktivitesi ölçümü, renkli formazan oluşumu, yani nitrojen tetrazolyumun (NBT) ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından üretilen O₂ molekülleri aracılığıyla indirgenmesi temelinde gerçekleştirildi.³⁸ GST enzim etkinliği 340 nm'de bir spektrofotometre kullanılarak glutasyon ve substrat ile thioether bağın oluşumunu ölçerek belirlenmiştir (Shimadzu, UV-1280 UV-VIS, Tokyo, Japan).³⁹

3.2.3. Veri Analizi

Bir yönlü ANOVA ile sağlık durumu ve hastalık sürecindeki değişimler Statistical Analysis System, Version 9.0 (SAS, 2002) paket programı kullanılarak belirlendi. LSD opsiyonu ile hayvanların fizyolojik durumlarına göre farklılık olup olmadığı test edildi. $P < 0,05$ düzeyi anlamlılık olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Sağlıklı ve şaplı ineklerde MDA, E, C ve A vitamin düzeyleri Tablo 4.1.'de sunulmuştur. Tablo incelendiğinde serum MDA düzeyleri, sağlıklı ineklere kıyasla 37. günde hasta ineklerde önemli ölçüde daha yüksekti. Ancak, 7 ve 22 gün örneklemede serum MDA konsantrasyonları FMD grubunda sağlıklı inek grubuna göre daha düşüktü. FMD'nin serum MDA konsantrasyonları ve sağlıklı boğa, düve baldırı, gebe düve, emziren inek ve erkek buzağıda benzerdi. Serum C vitamini düzeyleri, hastalıklı olanlara göre sağlıklı sığırlarda en yüksekti ve hastalıklı grupta serum C vitamini seviyeleri 7'den 22'ye düştü ve 37. günde etkilenmedi. Boğa, düve, gebe düve, emziren inek ve erkek buzağılarında C vitamini konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark vardı. Benzer eğilim A vitamini için de görülmüştür. Oysaki, sağlıklı grubun E vitamini kasılmaları olan hastalıklı gruba göre 7 ve 22. günlerde farklı değildi, ancak örneklemin 37. gününde önemli ölçüde azaldı. Boğa, düve, buzağı, gebe düve, emziren inek ve erkek buzağılarında E vitamini konsantrasyonları arasında da anlamlı bir fark vardı. Sağlıklı ve şaplı ineklerde GSH, GPX ve SOD düzeyleri Tablo 4.2.'de sunulmuştur. Tablo incelendiğinde serum GSH düzeyleri sağlıklı ve hastalıklı grup arasında 7. günde benzerdi, daha sonra 22. günde azaldı ve hastalıklı grupta 37. günde minimum konsantrasyonlar gözlemlendi. GSH, GPx için de benzer bir eğilim gözlemlendi. Serum SOD konsantrasyonları mevcut çalışmanın sağlıklı ve hastalıklı grupları arasında farklı değildi.

Tablo 4.1. Sağlıklı ve şaplı ineklerde MDA, E, C ve A vitamin düzeyleri.

Parametere						Grup	Altgrup				
		Sağlıklı	Şap (d 7)	Şap (d 22)	Şap (d 37)	Sagvs. Sap	Altgrup	Grup x Altgrup	Altgr	Time	Time x altgr
MDA	Genel Ortalama	0.144±0.005^b	0.113±0.008^c	0.119±0.007^c	0.164±0.010^a	0.06	0.84	0.07	0,22	0,01	0,48
	Altgrup Ortalama										
	Boğa	0,109±0,014	0,139±0,020	0,122±0,022	0,138±0,031						
	Düve Buzağı	0,153±0,010	0,122±0,023	0,143±0,031	0,169±0,022						
	Gebe Düve	0,161±0,014	0,113±0,028	0,125±0,025	0,170±0,031						
	Emziren İnekler	0,146±0,013	0,098±0,015	0,111±0,018	0,128±0,016						
	Boğa Buzağı	----	0,110±0,011	0,117±0,012	0,191±0,013						
Vitamin C	Genel Ortalama	0.502±0.031^a	0.219±0.039^c	0.353±0.043^b	0.362±0.039^b	0.01	0.003	0.0004	0,74	0,90	0,008
	Altgrup Ortalama										
	Boğa	0,310±0,060	0,438±0,085	0,183±0,101	0,240±0,143						
	Düve Buzağı	0,547±0,042	0,150±0,098	0,301±0,143	0,399±0,101						
	Gebe Düve	0,527±0,060	0,605±0,120	0,360±0,117	0,263±0,143						
	Emziren İnekler	0,572±0,056	0,211±0,064	0,284±0,082	0,419±0,071						
	Boğa Buzağı	----	0,112±0,047	0,438±0,054	0,348±0,058						
Vitamin A	Genel Ortalama	1.003±0.071^a	0.635±0.082^b	0.771±0.067^b	0.394±0.061^c	0.0001	0.05	0.62	0,12	0,005	0,22
	Altgrup Ortalama										
	Boğa	1,122±0,155	0,539±0,219	0,507±0,182	0,534±0,258						
	Düve Buzağı	0,986±0,109	0,124±0,252	0,742±0,258	0,290±0,182						
	Gebe Düve	0,897±0,155	0,213±0,309	0,909±0,211	0,259±0,258						
	Emziren İnekler	1,020±0,146	0,622±0,165	0,883±0,149	0,288±0,129						
	Boğa Buzağı	----	0,854±0,121	0,773±0,098	0,499±0,105						

Tablo 4.1. Sağlıklı ve şaplı ineklerde MDA, E, C ve A vitamin düzeyleri (devamı)

Vitamin E	Genel Ortalama	2.043±0,141 ^a	2.028±0,183 ^a	2,159±0,265 ^a	1,659±0,228 ^b	0,05	0,0008	0,48	0,0001	0,20	0,16
Altgrup ortalama											
Boğa		2,239±0,289	1,576±0,408	1,474±0,556	1,432±0,786						
Düve Buzağı		1,445±0,204	1,093±0,472	1,356±0,786	1,438±0,556						
Gebe Düve		2,286±0,289	1,203±0,578	2,507±0,642	1,303±0,786						
Emziren İnekler		2,715±0,272	2,741±0,309	4,250±0,454	2,331±0,393						
Boğa Buzağı		----	2,126±0,227	1,499±0,297	1,382±0,321						

Tablo 4.2. Sağlıklı ve şaplı ineklerde GSH, GPX ve SOD düzeyleri.

Parametere		Sağlıklı	Şap (d 7)	Şap (d 22)	Şap (d 37)	Grup	Altgrup	Grup x Altgrup	subgr	Time	Time x altgr
						Sagvs. Sap	Altgrup				
GSH	Genel Ortalama	1,925±0,146^a	1,616±0,135^a	1,107±0,207^b	0,577±0,176^c	0,67	0,18	0,42	0,50	0,0001	0,27
	Altgrup Ortalama										
	Boğa	2,443±0,302	2,138±0,428	0,374±0,467	0,192±0,660						
	Düve Buzağı	1,834±0,214	1,285±0,382	0,646±0,660	0,419±0,467						
	Gebe Düve	1,681±0,302	2,342±0,494	0,586±0,539	0,465±0,660						
	Emziren İnekler	1,834±0,302	1,605±0,302	1,010±0,381	0,374±0,330						
	Boğa Buzağı	...	1,448±0,221	1,536±0,249	0,901±0,295						
GPX	Genel Ortalama	1146±42^a	1071±41^a	807±58^b	587±45^c	0,56	0,06	0,25	0,39	0,0001	0,01
	Altgrup Ortalama										
	Boğa	850±85	966±121	572±126	596±178						
	Düve Buzağı	1253±60	996±108	778±145	562±126						
	Gebe Düve	1206±85	1215±139	459±145	613±145						
	Emziren İnekler	1167±80	1134±85	627±103	682±95						
	Boğa Buzağı	...	1062±60	1017±65	532±73						
SOD	Genel Ortalama	1,9982±<0,00001^{ab}	1,9982±<0,00001^a	1,9982±<0,00001^{ab}	1,9983±<0,00001^a	0,97	0,58	0,04	0,21	0,02	0,22
	Altgrup Ortalama										
	Boğa	1,9981±<0,00001	1,9982±<0,00001	1,9982±0,0001	1,9983±0,0001						
	Düve Buzağı	1,9982±<0,00001	1,9983±<0,00001	1,9981±0,0001	1,9983±0,0001						
	Gebe Düve	1,9982±<0,00001	1,9981±<0,00001	1,9982±0,0001	1,9982±0,0001						
	Emziren İnekler	1,9982±<0,00001	1,9982±<0,00001	1,9981±<0,00001	1,9982±<0,00001						
	Boğa Buzağı	...	1,9982±<0,00001	1,9982±<0,00001	1,9983±<0,00001						

5. TARTIŞMA

Hastalıklarda, MDA ve NO gibi oksidanlar parametreleri artış gösterirken, E ve C vitamini, GSH, GPX ve SOD gibi antioksidan parametreler azalmayı gösterir. Eritrosit glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz seviyeleri, *Theileria annüle* ile enfekte ineklerde sağlıklı ineklere göre anlamlı olarak daha düşüktü.⁴⁰ Leptospirosis ile enfekte olmuş boğalarda normal olanlara göre daha düşük glutatyon peroksidaz enzim seviyelerini bulmuşlardır.⁴¹ *T annulate* ile enfekte ineklerin MDA konsantrasyonları, sağlıklı inekler ile karşılaştırıldığında daha yüksekti.⁴⁰ *T annulate* ile enfekte olmuş sığırların eritrositlerinde normal olanlara kıyasla artmış lipid peroksidasyonunu gözlemlemişlerdir.⁴² Ayrıca, leptospirozdan enfekte boğalar, normal boğalarla karşılaştırıldığında önemli derecede daha yüksek MDA seviyeleri gösterdi ve çalışmanın yazarı, oksidatif stresi, leptospiroza bağlı hasarın ardındaki mekanizmalardan biri olarak doğruladı.⁴¹ Sığırlarda koksidiyal enfeksiyon, toplam antioksidan düzeylerini önemli ölçüde azalttı ve hastalarda MDA düzeylerini artırdı. Yazar, oksidatif stresin, koksidiyoza patogenezinde önemli rol oynadığını ileri sürdü.⁴³ *Brucella abortus* ile enfekte sığırların sağlıklı hayvanlara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek nitrik oksit seviyeleri ($58.20 \pm 6.50 \mu\text{mol} / \text{L}$ 'ye karşı $38.07 \pm 2.40 \mu\text{mol} / \text{L}$) ve MDA ($2.25 \pm 0.10 \text{ nmol} / \text{ml}$ 'ye karşı $1.74 \pm 0.25 \text{ mmol} / \text{ml}$) gösterdi. Nitrik asitteki bu artış, makrofajlardaki nitrik asidin sentezinin bakteriyel ajan ile uyarılmasından dolayı ileri gelebilir. Oysa MDA'daki artış, *B abortus*'un membran lipidleri üzerindeki etkisine ve doku hasarına bağlı olarak aşırı serbest radikallerin üretimleridir.⁴⁴

10 sağlıklı ve 10 tane FMD ile etkilenen sığırların serum biyokimyasal parametrelerini karşılaştırmışlardır. Sağlıklı hayvanlara kıyasla FMD'den muzdarip hayvanlarda serum MDA ve nitrik oksit seviyelerinde artış ve toplam antioksidan kapasite ve albümin azalmasını bulmuşlardır.⁴⁵ Çeşitli hastalıklar ve viral enfeksiyonlar

hayvanlarda oksidatif strese neden olur. Bu enfeksiyonlar, bol miktarda reaktif oksijen türü ve reaktif nitrojen türlerini serbest bırakan bağışıklık sistemini harekete geçirir.⁴⁶ Makrofajlar ve nötrofiller, patojenlerle savaşırken yüksek miktarda reaktif oksijen türü üreten viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı bağışıklık yanıtının güçlü hücresi olarak kabul edilir. Reaktif oksijen türleri lipit peroksidasyonunun ana sebebidir ve MDA lipid peroksidasyonunun göstergesidir. Ayrıca, reaktif oksijen türlerinin bu aşırı üretimi toplam antioksidanları azaltır ve bu denge oksidatif strese yol açar.⁴⁵ FMD ile etkilenen sığırlarda oksidan kapasite ve nitrik oksit düzeylerinde normal olanlara göre artış gözlemlenmiştir.⁴⁷ Bir başka çalışmada, FMD ile etkilenen hayvanlar, sağlıklı hayvanlara kıyasla önemli ölçüde daha düşük süperoksit dismutaz ve C vitamini konsantrasyonları gösterdi.⁴⁸ Sağlıklı hayvanlara kıyasla MDA'da artış ve FMD ile etkilenen hayvanlarda C ve E vitamini düzeylerinde düşüş olduğunu göstermiştir.⁴⁹ FMD ile enfekte olmuş boğaların serum ve tükürük örnekleri önemli ölçüde daha yüksek MDA seviyeleri (31.82 vs 82.49) ve nitrik oksit ve daha düşük glutatyon seviyeleri (GSH) (63.43 vs 24.96) gösterdi.⁵⁰ FMD, süperoksit dismutaz ve total antioksidan kapasitesinin genel kasılmalarını azalmasına MDA konsantrasyonunda artışına, dişi hayvanlarda düşük ovarian aktivitesine ve plasenta retansiyona sebep oldu.⁵¹

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar test edilen hipotezin doğruluğunu göstermiştir. Yani, şap başlangıcından itibaren viremi sürecinde doku hasarı gelişirken, antioksidan sistemde yer alan vitaminler ve mineral azalmıştır. Bunlara bağlı olarak savunma sistemi enzimlerinin düzeyleri de değişmiştir.

Hastalığın seyrinin kısaltılması ve şiddetinin azaltılması için antioksidan sistemin, bu sistemde ko-enzim olarak rol oynayan vitaminlerin ve ko-faktör olarak rol oynayan minerallerin takviyesi faydalı olacaktır.

Faydalı model olarak da adjuvanların bu besin maddelerince zenginleştirilmesi katma değer sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Margo ECT, Ian H, Bartlomiej MB, Nicholas DJ, Debi G, Sarah J, Miriam AW, Elizabeth R, Claudia D, Richard H, Paul VB, Mark EJW, Bryan C. Understanding foot-and-mouth disease virus transmission biology identification of the indicators of infectiousness. *Vet Res*, 2013, 44: 46-55.
2. Abdela Nejash. Sero-prevalence, risk factors and distribution of foot and mouth disease in Ethiopia. *Acta Tropica*, 2017, 169: 125-132.
3. Alexandersen S, Zhang Z, Donaldson AI, Garland AJM. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. *J Comp Pathol*, 2003, 129: 1-36.
4. Fracastorius H. De alijs differentijs contagionis. De Sympathia et Antipathia Rerum Liber Unus. De Contagione et Contagiosis Morbis et Curatione (libri iii), 1546, 36–38. Heirs of L.A. Junta Book 1.
5. Loeffler F, Frosch P. Summarischer Bericht ueber der Ergebnisse der Untersuchungen zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche. *ZentBl. Bakt Parasitkde*, 1897, 22: 257–259.
6. Nazlıoğlu M, Örün H. Türkiye'de Şap Hastalığının Epidemiyolojisi, Kontrolu ve Ekonomik Zararları Üzerinde Araştırma. In: Ünlüleblebıcı N, Sütçü M, Boz C, Okay G (eds). *Şap Enstitüsü 1967-1969*. Ankara, Türkiye: Şap Enstitüsü, 1969.
7. Özsoy A. FMDV Serotypes Detected in Turkey (1952-1953). *Bull Off Int Epizoot*, 1953, 39.
8. Brito BP, Rodriguez LL, Hammond JM, Pinto J, Perez AM. Review of the Global Distribution of Foot-and-Mouth Disease Virus from 2007 to 2014. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64: 316-332.
9. Grubman MJ, Barry B. Foot-and-mouth disease. *Clin Microbiol Rev*, 2004, 17(2): 465-493.

10. Jamal SM, Graham JB. Foot-and-mouth disease: past, present and future. *Vet Res*, 2013, 44: 116-129.
11. Aftosa F. Foot and Mouth Disease. CFSPH, The Center for Food Security and Public Health, Iowa State University; Ames: 2007.
12. Coetzer JAW, Thomsen GR, Tustin RC, Kriek NPJ. Foot-and-mouth disease. In: Coetzer JAW, Thomsen GR, Tustin RC, Kriek NPJ (eds). *Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa*, 1st ed. Cape Town, Oxford University Press, 1994: 825–852.
13. Knowles NJ, Davies PR, Henry T, O'Donnell V, Pacheco JM, Mason PW. Emergence in Asia of foot-and-mouth disease viruses with altered host range: characterization of alterations in the 3A protein. *J Virol*, 2001, 75: 1551–1556.
14. Mahy BWJ. Introduction and history of foot and mouth disease virus. In: Compans RW, Cooper MD, Honjo, T, Melchers F, Olsnes S, Vogt, Pk (eds). *Foot-and-mouth disease virus*. 1st ed. Berlin Heidelberg, Springer Science & Business Media, 2004: 1-9.
15. Gailiunas P. Microscopic skin lesions in cattle with foot-and-mouth disease. *Arch Gesamte Virusforsch*, 1968, 25: 188–200.
16. Alexandersen S, Oleksiewicz MB, Donaldson AI. The early pathogenesis of foot-and-mouth disease in pigs infected by contact: a quantitative time course study using TaqMan RT-PCR. *J Gen Virol*, 2001, 82: 747–755.
17. Yilma T. Morphogenesis of vesiculation in footand- mouth disease. *Am J Vet Res*, 1980, 41: 1537–1542.
18. Arzt J, Juleff N, Zhang Z, Rodriguez LL. The Pathogenesis of Foot-and-Mouth Disease I: Viral Pathways in Cattle. *Transbound Emerg Dis*, 2011, 58 (4): 291-304.

19. Knight-Jones TJD, Rushton J. The economic impacts of foot and mouth disease
What are they, how big are they and where do they occur?. *Prev Vet Med*,
2003, 112: 161-173.
20. Rushton J. *The Economics of Animal Health and Production*, 1st ed. Oxford,
Massachusetts, CAB International, 2009:193–197.
21. Niedbalski W, Kęsy A, Erkiert-Polguj A, Polguj M. Foot-and-mouth disease as a
zoonosis. *Med Wete*, 2006, 62: 374-376.
22. Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as
antioxidants. *Am Journal Clini Nutr*, 1995, 62: 1315-1321.
23. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and
oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*, 2003, 91: 179-194.
24. Marnett LJ. Lipid peroxidation DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*,
1999, 424: 83-95.
25. Moore K, Roberts LJ. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res*,
1998, 28: 659-671.
26. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-
hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*,
1991:118-128.
27. Yagi KA. Simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem
Med*, 1976, 15:212-216.
28. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on
malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr
Metab Cardiovas Dis*, 2005, 15: 316-328.

29. Ibrahim W, Lee US, Yeh CC, Szabo J, Bruckner G, Chow CK. Oxidative stress and antioxidant status in mouse liver: effects of dietary lipid, vitamin E and iron. *J Nutr*, 1997, 127: 1401-1406.
30. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*, 1993, 57(5): 715-724.
31. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed. New York, Oxford University Press, 1999: 936.
32. Knight JA. Diseases related to oxygen-derived free radicals. *Ann Clin Lab*, 1995 25: 111–121.
33. Sheu JY, Ku HP, Tseng WC, Chen MT, Tsai LY, Huang YL. Determination of thiobarbituric acid adduct of malondialdehyde using on-line microdialysis coupled with high-performance liquid chromatography. *Anal Sci*, 2003, 19(4): 621-624.
34. Karatepe M. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by hplc–uv. *LC GC NAM*, 2004, 22: 362-365.
35. Barim O, Karatepe M. The effects of pollution on the vitamins A, E, C, beta-carotene contents and oxidative stress of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2010, 73:138-42.
36. Miller KW, Lorr NA, Yang CS. Simultaneous determination of plasma retinol, tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid chromatography. *Anal Biochem*, 1984, 138:340-345.
37. Lopez-Cervantes J, Sanchez-Machado DI, Ríos-Vázquez NJ. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol, α -tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *J Chromatogr A*, 2006, 1105: 135-139.

38. Habig W, Michael H, Pabst J, Jakoby WB. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 1974, 249: 7130-7139.
39. Sun YI, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988, 34: 497-500.
40. Rezaei SA, Dalir-Naghadeh B. Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet Parasitol*, 2006, 142: 179-186.
41. Erdogan HM, Karapehlivan M, Citil M, Atakisi O, Uzlu E, Unver A. Serum sialic acid and oxidative stress parameters changes in cattle with leptospirosis. *Vet Res Commun*, 2008, 32: 333-339.
42. Grewal A, Ahuja CS, Singha SPS, Chaudhary KC. Status of lipid peroxidation, some antioxidant enzymes and erythrocytic fragility of crossbred cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet Res Commun*, 2005 29: 387-394.
43. Yilmaz S, Issi M, Kandemir MF, Gul Y. Malondialdehyde and total antioxidant levels and hematological parameters of beef cattle with coccidiosis. *YYU Vet. Fak. Derg*, 2014, 25: 41-45.
44. Nisbet C, Yarim GF, Ciftci A, Cenesiz S, Ciftci G. Investigation of serum nitric oxide and malondialdehyde levels in cattle infected with *Brucella abortus*. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 2007, 54: 159-163.
45. Mousa SA, Galal MK. Alteration in clinical, hemobiochemical and oxidative stress parameters in Egyptian cattle infected with foot and mouth disease (FMD). *J Anim Sci Adv*, 2013, 3: 485-491.

46. Zelnickova P, Matiasovic J, Pavlova B, Kudlackova H, Kovaru F, Faldyna M. Quantitative nitric oxide production by rat, bovine and porcine macrophages. *Nitric Oxide*, 2008, 19: 36-41.
47. Bozukluhan K, Atakisi E, Atakisi O. Nitric oxide levels, total antioxidant and oxidant capacity in cattle with foot-and-mouth-Disease. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2013, 19: 179-81.
48. Nath R, Prasad RL, Sarma S. Oxidative stress biomarkers in cross bred cows affected with foot and mouth disease. *Indian J Anim Res*, 2015, 48(6): 628-632.
49. Yörük IH, Tanritanir P, Dede S, Ceylan E, Ragbetli C. Antioxidant vitamins and microminerals in cows with foot-and-mouth disease. *Indian J. Anim. Res*, 2014, 48: 593-596.
50. Uzlu E, Karapehlivan M, Erdogan HM, Kiziltepe S, Erkilic EE, Deveci, HA, Gokce E, Kaya I, Cital M. Serum and saliva sialic acid and oxidative stress parameters changes in bulls with foot and mouth disease. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2016, 22: 321-325.
51. Zaher KS, Ahmed WM. Impact of foot and mouth disease on oxidative status and ovarian activity in Egyptian buffaloes. *World J Zool*, 2008, 3: 01-07.
52. Rubab Sakina. Foot and Mouth Disease at first sight. <https://www.slideshare.net/sakinar91/foot-and-mouth-disease-at-first-sight>. 18 Nisan 2015.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Doğum tarihi: Doğum Yeri: Medeni Hali: Uyruğu: Adres: Tel: Faks: E-mail:
Eğitim
Lise: Lisans: Yüksek lisans: - Doktora: -
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Almanca: - Rusça: -
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Bilgeni BALLI
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespiti yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 0	% 15
II. Genel Bilgiler	% 1	% 35
III. Materyal ve Metod	% 32	% 35
IV. Bulgular	% 0	% 15
V. Tartışma	% 0	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
----------------------	---------------

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ
ETİK ALT KURUL BAŞKANLIĞI
(AÜVFEAK)



ETİK KURUL KARARI

Karar Sayısı: 2015/4	Karar Tarihi: 03/04/2015
<p>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Armağan HAYIRLI ve Vet. Hek. Bülent BALLI tarafından sunulan “Şap Hastalığında Bazı Antioksidan Enzim ve Vitamin Düzeylerinin Saptanması” adlı bilimsel teze ait başvuru formu etik kurulumuz tarafından değerlendirilmiştir.</p> <p>Çalışmada Erzurum Pasinler ilçesinde barındırılan ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İlçe Müdürlüğüne ihbar edilen ve kesin teşhisi yapılan 36 adet şaplı sığırdan alınan kan örneklerinde antioksidan enzim ve vitamin düzeyleri incelenecektir. Bu çerçevede yürütülecek olan tez çalışmasının Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ilkelerine uygun olduğuna karar verilmiştir.</p>	