

**PARENTERAL YOLLA VERİLEN B KOMPLEKS
VİTAMİNLERİNİN SIĞIRLARDA RUMEN PROTOZOONLARI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Seda EKİCİ (AKGÜN)

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Bülent ELİTOK
Tez No:2017-017**

2017-AFYONKARAHİSAR

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PARENTERAL YOLLA VERİLEN B KOMPLEKS
VİTAMİNLERİNİN SIĞIRLARDA RUMEN PROTOZOONLARI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Seda EKİCİ(AKGÜN)

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Bülent ELİTOK

**Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 16.SAĞBİL.13 proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No:2017-017

2017-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
İç Hastalıkları Programı
çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:21.09.2017


Doç. Dr. Bülent ELİTOK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı


Doç. Dr. Kenan SEZER

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Raportör


Yrd. Doç. Dr. Mustafa KABU

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Seda AKGÜN'ün
“**Parenteral Yolla Verilen B Kompleks Vitaminlerinin Sığırlarda Rumen
Protozoonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı tezigünü
Saat.....’da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri
uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özal ÖZCAN
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	ii
Önsöz	v
Kısaltmalar	vi
Tablolar	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Önemli Bazı B Grubu Vitaminleri Nerelerde Bulunur ve Faydaları Nelerdir?	2
1.1.1. B1 Vitamini	2
1.1.2. B2 Vitamini	3
1.1.3. B3 Vitamini	3
1.1.4. B5 Vitamini	3
1.1.5. B6 Vitamini	4
1.1.6. B12 Vitamini	4
1.2. Ruminantlarda B Kompleks Vitaminleri	4
1.2.1. Vitamin B1 (Tiamin)	4
1.2.2. Vitamin B2 (Riboflavin / Laktoflavin)	5
1.2.3. Vitamin B3 (Niasin)	6
1.2.4. Vitamin B4 (Kolin)	6
1.2.5. Vitamin B5 (Pantotenik Asit)	7
1.2.6. Vitamin B6 (Adermin)	8
1.2.7. Vitamin B7 (Biotin)	8
1.2.8. Vitamin B9 (Folik Asit)	9
1.2.9. Vitamin B12 (Kobalamin)	9
1.2.10. Rumen Protozoonları ve İşlevleri	11

2. MATERYAL VE METOT	16
2.1. Materyal	16
2.2. Metot	16
2.2.1. Rutin Klinik Muayeneler.....	16
2.2.2. Hematolojik Muayeneler.....	17
2.2.3. Serum Biyokimyasal Muayeneleri	17
2.2.4. Rumen SIVISI Muayeneleri	17
2.2.4.1. Rumen SIVISINDA Metilen Mavisi Testi.....	18
2.2.4.2. Rumen SIVISI Total İnfusoriya Sayımı	18
2.2.4.3. Sedimentasyon Testi	19
2.2.5. İstatistiksel Analizler.....	19
3. BULGULAR	20
3.1. Klinik Muayene Bulguları.....	20
3.2. Rumen SIVISI Bulguları	21
3.2.1. İnfusoria Sayısı Bulguları	21
3.2.2. Metilen Mavisi Testi Bulguları	21
3.2.3. Sedimentasyon Testi Bulguları	22
3.3. Hematolojik Muayene Bulguları.....	23
3.4. Metabolik Profil Bulguları	26
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
ÖZET.....	39
ABSTRACT	40
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ.....	50

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanması sırasında bana rehber olan, fikirlerini ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Bülent ELİTOK olmak üzere emeği geçen tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini ve fedakârlıklarını esirgemeyen ve her zaman yanımda olduklarını bilerek güç aldığım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte beni yalnız bırakmayan desteğini benden esirgemeyen eşime çok teşekkür ederim.

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 16.SAĞBİL.13 proje numarası ile desteklenmiştir.

KISALTMALAR

ALB: Albumin

AST: Aspartat Aminotransferaz

ALP: Alkalen Fosfataz

BUN: Blood Urea Nitrogen

CREA: Kreatin

GRAN: Granülosit

GLU: Glukoz

HGB: Hemoglobin

HCT: Hematokrit

LDH: Laktat Dehidrogenaz

LENF: Lenfosit

MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin

MCHC: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

MCV: Mean Corpuscular Volume

MONO: Monosit

NAD: Nikotin amid

NADP: Nikotin amid di fosfat

OCT: Ornitil Karbomil Transferaz

P: Pulmoner

R: Respiratory

RBC: Eritrosit

SDH: Sorbitol Dehidrogenaz

T: Temperature

TP: Total protein

UREA: Üre

WBC: Lökosit

TABLolar

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Çalışmada kullanılan hayvanların vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansları ile rumen hareketleri açısından karşılaştırılması	21
Tablo 2. Kontrol ve çalışma grubundaki buzağuların rumen sıvısı istatistiki analiz sonuçları.....	22
Tablo 3. Hematolojik muayene bulguları istatistiki analiz sonuçları.....	25
Tablo 4.. Metabolik profil parametreleri ortalamalarının istatistiki karşılaştırılması	28

1. GİRİŞ

Suda çözünen B ve C vitaminleri ile yağda çözünen K vitamini ruminantlarda ön midedeki mikroorganizmalar tarafından sentez edilmektedir (Coleman, 1975; Coleman, 1980; De Meyer, 1981; Castillo-Gonzales ve ark., 2014). Ruminantlar salgıladıkları özel enzimler sayesinde bakterilerin depoladıkları B vitaminlerini, bakterilerin içinde bulunduğu sindirilmiş gıdaların abomazuma geçişleri sırasında, elde ederler. Rumen protozoonlarının B vitaminlerini sentezleme kabiliyeti yoktur. Bunlar bakterileri sindirerek veya rumen sıvısında serbest bulunan B vitaminlerini alarak ihtiyaçlarını giderirler (Elitok ve ark., 2016). B vitaminleri koenzim olarak karbonhidrat, protein ve yağların metabolizmalarında önemli rol oynarlar. Ruminantlarda, rumenlerinde bulunan mikroorganizmalar tarafından üretilen B vitaminleri sayesinde, B vitamini eksikliği çok sık görülmez (Lardinois ve ark., 1944; Elliott, 1981; Leklem ve ark., 1991; Girard, 1998). Preruminant kuzu ve buzağılarda süt haricindeki yemlerine B vitamini ilavelerine ihtiyaç vardır (McDowell, L.R., 2000; Elitok ve ark., 2016).

B vitaminleri vücuda enerji verdikleri gibi sinir hücrelerinde bulunan fonksiyonları da düzenlemektedir. Vücutta bulunan karbonhidratların parçalanması ve enerjinin açığa çıkmasından sorumludurlar. Bu iki nitelik vücuttaki adale gelişimi ve adale fonksiyonları için oldukça önemli ve gerekli bir konumdadır. Bu kadar özelliği bulunan B grubu vitaminlerinin fazla alımı vücuda bir yarar sağlamaz ve boşuna alınmış olur, vücut gerekli olan vitamini alıp depo eder (Radostits ve Bell, 1970; Santschi ve ark., 2005; NRC, 2005).

B vitaminleri bir vitaminler grubu olup, bu gruptaki vitaminlere B kompleks vitaminler de denir. Bu kompleksin içinde barındırdığı vitamin türleri özetle şunlardır:

- VİTAMİN B1 (TİAMİN)
- VİTAMİN B2 (RİBOFLAVİN/LAKTOFLAVİN)

- VİTAMİN B3 (NİASİN)
- VİTAMİN B4 (KOLİN)
- VİTAMİN B5 (PANTOTENİK ASİT)
- VİTAMİN B6 (ADERMİN)
- VİTAMİN B7(BİOTİN)
- VİTAMİN B9 (FOLİK ASİT)
- VİTAMİN B12 (KOBALAMİN)

1.1. Önemli Bazı B Grubu Vitaminleri Nerelerde Bulunur ve Faydaları Nelerdir?

B vitaminleri birçok besin maddesinde bulunmaktadır. Tahıllar, yağsız etler, karaciğer, yürek, yer fıstığı, tavuk, ceviz, yumurta, kepek ekmeği B vitamini bulunduran besinlerin sadece bir kaçıdır. Süt ve süt ürünlerinde, balıklarda, yumurtanın sarısında, kuru baklagil, ıspanak ve bezelyede daha çok da görülmektedir. Suda eriyen ve fazla depo süresi olmayan B vitaminlerinin bir çok faydası ve özelliği bulunmaktadır. Yemeklerde pişirilen suyun dökülmesi veya atılması bu vitaminlerin yok olmasını sağlar. Gelişme, sinir ve sindirim sistemi gibi sistemlere yardımcı olur, onarır ve düzenler. B vitaminleri birbirlerini tamamlayıcı özellik göstermektedir bu yüzden toplu olarak verilmektedir yada alınmalıdır (Zinn ve ark., 1987; Scott ve ark., 1982; Smith, 2009; Elitok ve ark., 2016).

1.1.1. B1 Vitamini

Sığır etinde, bira mayasında ve tahılların kabuklarında oldukça fazla bulunmaktadır. Bunların haricinde ceviz, fındık, soya fasulyesi, bezelye, kuşkonmaz, mısır ekmeği ve patatesten azımsanmayacak oranlarda bulunur. Gebelik durumlarında, iştahsızlık ve sinir ağrılarında B1 vitamini oldukça etkilidir. O yüzden bu rahatsızlıkları bulunan

hastalıklara bu vitamin verilmektedir (Silzell ve ark., 2002; Smith, 2009; NRC, 1989).

1.1.2. B2 Vitamini

Vücutta bulunan asit oranını düzenlemesi en büyük özelliğidir. Solunum sisteminin çalışmasına yardımcı olmaktadır. Cildin parlaklığını, tırnak kırıklarının olmamasını sağlar. Et, balık ve süt ürünlerinde oldukça fazla bulunmaktadır (Osame ve ark., 1995; Radostits ve Bell., 1970; Radostits ve ark., 2008).

1.1.3. B3 Vitamini

Müsküler tetaniyi engellediği, cilt hastalıklarının tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği bilinen bir B vitamini çeşidi olduğu bildirilmiştir (Santschi ve ark., 2005; Girard, 1998, NRC, 2007).

1.1.4. B5 Vitamini

Tüketilen her besinin içerisinde bol miktarda bulunmaktadır. Her türlü besinin içerisinde olduğu özellikle şu besinlerde vardır denilemez. Kan hücrelerini ve antioksidanların üretimi için gereklidir. Sindirim sisteminin çalışmasında etkili ve yardımcı bir rol üstlenir. Hemen hemen her besinde olduğu için eksikliğine pek fazla rastlanmaz. Büyüme ve gelişmede oldukça önemli bir yere sahiptir. Salgı bezlerinde bulunan fonksiyonların bozulmasını engeller (Lee ve ark., 1985; NRC, 1987; McDowell, 2000).

1.1.5. B6 Vitamini

Vücut fonksiyonlarının hemen hemen hepsinde etkisi bulunan bir B vitamini çeşididir. Bu vitaminin eksikliği vücutta yıkımlara sebep olabilir, bu denli önemli bir vitamin eksik alınırsa eğer kas hücrelerinde bulunan aminoasit emilimleri de düşecektir. Bu gibi durumlar yoğun antrenman ve diyet gibi durumlarda kendilerini göstermektedirler. Bu durumların büyüme hormonu ve ensülin salgısından kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Lardinois ve ark., 1944; Bender, 1999; Santschi ve ark., 2005).

1.1.6. B12 Vitamini

Bu vitaminin eksikliği sonucu ortaya çıkacak en büyük rahatsızlık anemi hastalığıdır. Eksikliği sonucu sinir sisteminde oluşacak olan tahribat geri dönüşü olmayan bir yol ve sorunlara açmaktadır. Bu vitamin hayvansal gıda ve ürünlerden alınabilir. Sinir sistemini düzenleyici, onarıcı özelliği bulunmaktadır. Bu özellikleri sayesinde sinir fonksiyonlarının düzenli çalışmasına yardımcı olmaktadır. Eksikliği sonucunda görülen diğer hastalıklarda; ishal, mide bulantısı, iştah kaybı, hafızada zayıflama, yorgunluk ve huzursuzluk gibi şeylerdir (Friesecke,1980).

1.2. Ruminantlarda B Kompleks Vitaminleri

1.2.1. Vitamin B1 (Tiamin)

B1 vitamini noksanlığında glikozun parçalanma işleminde ilerleme olmayacağından, beyin başta olmak üzere perifer sinirler, kan ve pek çok dokuda laktat ile piruvat birikmesi şekillenir ve bu dokular, enerji ihtiyaçlarını karşılayamadıklarından zarar görmeye başlarlar (Gibson ve Zhang, 2002). B1 vitamini eksikliğinde ayrıca alyuvarlarda transketolaz reaksiyonu bloke olur ve pentoz fosfat birikimi şekillenir (Gubler, 1991). Sinir sisteminin normal fonksiyonları için gerekli olan

nörotransmitterlerin de koenzimi B1 vitamindir. B1 vitamin seviyesi düştüğünde, nörotransmitterler oluşamaz ve sinirler arasındaki iletişim bozulur. Bu durumda eksitasyon, tremor, kas spazmları ve konvulüzyonlar şekillenir (McDowell, 2000). Tiamin eksikliğindeki diğer belirtiler ise başın sıklıkla geride tutulması, kardiyak aritmi, körlük, konvülsiyonlar, dehidrasyon, depresyon, şiddetli ishaldir .Bu belirtilerden sonra 24 saat içinde ölüm şekillenir. Tiamin eksikliğinde; keçilerde polioencephalomalacia (PEM), koyunlarda ise serbrokortikal nekroz (CCN) görülür (Kandyliş, 1984 , McKenzie ve ark., 2009).

B1 vitamini eksikliğine ruminantlarda pek rastlanmasada, ağızdan verilen antibiotikler, sulfa grubu ilaçlar, antiasitler tiamin düzeyini azatlığı için tiamin eksikliği şekillebilir. Rasyondaki fazla sülfür hidrojen sülfid gazı oluştur. Buda rumen bakterileri üzerine toksik etki oluşturmasından dolayı dolaylı yönden tiamin eksikliğine yol açar. Ayrıca karbonhidrat miktarı yüksek rasyonla beslenen hayvanlarda B1 ihtiyacı artabilmektedir (Harmeyer ve Kollenkirchen, 1989; NRC, 1989).

Tiamin rumendeki bazı bakteriler tarafından salgılanan ve "tiaminaz" adı verilen bir enzim tarafından yıkımlanır. Tiaminaz içeren bitkilerin bulunduğu yemlerin verilmesi tiamin eksikliği oluşturabilmektedir. Koksidiya ile enfekte ve amprolium ile tedavi edilen genç ruminantlarda tedbirli olmak amacıyla thiamin ilavesi gerekebilir. Süt emen buzağılar için tiaminin günlük gereksinimi 65 mikrogram/kg'dir (Elmadfa ve ark., 2001).

1.2.2. Vitamin B2 (Riboflavin / Laktoflavin)

Enerji üretimi, bazı enzimlerin işlevlerini sürdürebilmesi, yağ asiti ve amino asit üretimi açısından vitamin B2 hayati öneme haizdir. Riboflavin eksikliğinde, anoreksi kronik ishal ve büyümede gerileme gibi non-spesifik belirtiler görülür. Ayrıca gözlerde vazkularizasyon, korneada yangı, ağız ve bağırsak mukozasında yangı ve yarılma görülebilir (Radostits ve Bell, 1970). Bunlara ek olarak konjuktivit,

kıl dökülmesi ve üreme gücünde azalma, epitelizasyonda aksama, kollajen çapraz bağ oluşumunda bozulma, sinir sistemi ve deri problemleri de olası semptomlardır.

Normalde yetişkinlerde B2 vitamini eksikliği az görülürken, rumen florası yeterince gelişmeyen genç hayvanlarda riboflavin eksikliği oluşabilir (Girard, 1998; NRC, 1989). Riboflavinin yeme ilavelerinin etkileri ruminantlarda çok iyi araştırılmamada, i.m. riboflavin (buzağılarda 10 mg/kg; ineklerde 5 mg/ kg) enjeksiyonlarının enjeksiyondan sonraki 6 gün itibariyle kan nötrofil artışı ve bakterisidal etki sağlandığı bildirmektedir (Osame ve ark., 1995).

1.2.3. Vitamin B3 (Niasin)

Karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasıyla ilişkili bir seri reaksiyonlarda NAD ve NADP'nın önemli rolleri vardır. B3 vitamini insülin, östrojen, testosteron ve progesteron gibi cinsiyet hormonlarının sentezi için çok önemlidir. Niasin kan dolaşımını düzenleyen ve santral sinir sisteminin normal çalışmasına yardımcı olan bir vitamindir.. Niasin, ruminantlarda karaciğerde portal kandaki NH₃'ün üreye çevrilmesi sağlar ve keton cisimlerinin metabolizmasında önemli rol oynar (Girard, 1998). Niasin rumende oluşan VFA'ların oksidasyonu ve glikoz sentezinde rol alır ve ketozisin oluşumunu önler (Hopper ve Johnson, 1955; Erickson ve ark., 1991). Buzağı yemlerinde 2.6 mg/kg canlı ağırlık olacak şekilde minimum niasin düzeylerinin sağlanması önerilir (NRC, 1989). Ayrıca yemlerine 6-12 gr niasin ilave edilen ineklerde süt verimi artışı ve ketozisin önlenmesinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (NRC, 2005; Elitok ve ark., 2016).

1.2.4. Vitamin B4 (Kolin)

Kolin asetil kolinin önmaddesi olup, karnitin sentezini artırarak dolaylı olarak yağ metabolizmasında etkili bir rol oynamaktadır (Rohlf's ve ark., 1990). Bu etkisi ile, karaciğeri yağlanmaktan korur. Deneysel olarak kolin eksikliği oluşturulursa

kolesterol esterlerinin karaciğerde birikmesiyle yağlı karaciğer dejenerasyonu meydana gelir. Kolin DNA sentezinde kullanılan purin ve primidine'nin sentezine katılan metil gruplarında kaynağıdır (Zeisel, 1990. Kim ve ark., 1994). Ruminantlarda kolin yemle alındıktan sonra rumende hızla yıkımlanır ve emilimi çok azdır (Atkins ve ark., 1988). Rumen koruyucu kapsüllerle besi sığırlarında rasyona kuru madde kg başına 500 -700 ppm kolin ilave edilmesi %6-7 canlı ağırlık artışına yol açar. B4 vitamini ilavelerinin süt veriminde de %12-36'ya kadar artış sağladığı bildirilmiştir (Santschi, 2004).

1.2.5. Vitamin B5 (Pantotenik Asit)

B5 vitamini koenzim A'nın üretiminde zorunlu bir vitamindir. Pantotenik asit böbrek üstü bezi hormonları, steroidler, prostoglandinler, kortizon ve seratoninin (bu nedenle antistres vitamini olarak da bilinir.) oluşumunda önemli rol oynar. B5 vitamini D vitamini, kolesterol, kırmızı kan hücreleri ve antikorların üretimi için de gereklidir. Dengeli rasyonla beslenen hayvanlarda rumende yeterince üretim olmasından dolayı eksikliği pek görülmez. Rasyonda selüloz fazlalığı pantotenik asit azalmasına neden olurken, karbonhidrat oranının yüksek olması B5 vitamin sentezi üretiminin artmasını sağlar (Lardinois ve ark., 1944; Virtanen, 1966). B5 vitamininin rumendeki mikrobiyal sentezinin erkek buzağılarda sindirilebilir organik maddede kg başına 2.2 mg olduğu ve bunun %78'nin rumenden emildiği bildirilmektedir (Zinn ve ark., 1987). Sıvı gıda ile beslenen buzağılarda, diyete 12 mg/kg pantotenik asit ilavelerinin, B5 vitamini eksikliğinde görülen semptomlarını önlemede etkili olduğu bildirilmiştir(toksik etki görülebileceğinden, ilave miktarları 20 gr/kg'ı geçmemelidir) (NRC, 1989). Eksikliğinde belirtiler; ishal, anemi, kıllarda ağarma, gastrit, böbreküstü bezlerinde kanama, nekrozlardır. Bunların sonucunda ölüm şekillenir (NRC,1987; Elitok ve ark., 2016).

1.2.6. Vitamin B6 (Adermin)

Vitamin B6'nın pridoksol, pridoksal ve pridoksamine olmak üzere 3 formu bulunmaktadır. Pridoksol bitki kaynaklıdır fakat diğer ikisi hayvansal kaynaklıdır. Vitamin B6 rumendeki bakteri ve protozoonları tarafından fenilalanin ön maddeleri olan fenil prüvik asit ve fenil asetik asitten üretilmektedir (Lardinois ve ark., 1944; Ruhul ve Onodera, 1998; Leklem, 1991; Girard, 1998). Pridoksal rumende üretildiği halde, pasif diffüzyon ile ileumdan emilmektedir. Eksikliğindeki belirtiler; akson dejenerasyonu, perifer sinirlerde demyelinizasyon, kramplar, büyümede yetersizlik ve kansızlıktır. Sinir sistemindeki bozuklukların nedeni glutamat dehidrojenaz enzimi aktivitesinin ve γ -aminobutirik asit konsantrasyonunun azalması olduğu düşünülmektedir. Aneminin nedeni ise, pridoksal fosfata gereksinim gösteren γ -aminolevulinik asit sentetaz enziminin inhibisyonu ile alakalıdır. Çünkü bu durumda hem maddesinin sentezi aksar, demir kullanılmaz ve sonucunda birikim olur (Radostits ve Bell, 1970; Guyton ve Hall, 2006). Adermin eksikliği olduğu durumlarda buzağuların postmortem muayenelerinde epikardiyum ve böbreklerde kanama, periferik ve pnömoni gözlemlenmiştir (Johnson ve ark., 1950). Rumen gelişimini tamamlamış erişkinlerde B6 vitamini eksikliği görülmezken, buzağularda diyete 65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oranında ilavelerle eksikliğin oluşması önlenmektedir (Bender, 1999).

1.2.7. Vitamin B7 (Biotin)

İneklerde rasyona biotin ilavesi sonucu tırnak duvarı hasarlarının ve ıslak zeminlerden kaynaklanan pek çok tırnak hastalığının iyileştiği, gebelik ve topallık problemlerinin giderildiği ve karaciğer yağlanmalarının iyileştiği görülmüştür (Girard, 1998; Bender DA,1999; Elitok ve ark., 2016). Ayrıca yemlerine biotin ilavesi yapılan ineklerde süt artışıdaki etkisi, süt miktarında artış şeklinde olmaktan ziyade, eksikliğinde süt veriminde azalmayla sonuçlandığı şeklinde yorumlanmıştır (NRC, 2001). Buzağularda diyete 0.1 mg/kg ilavelerin yapılması veya eksiklik oluştuğunda 100 μg subkutan veya 1 mg intravenöz enjeksiyonları eksikliğin ortadan

kaldırılmasına yardımcı olur (NRC, 1989).

1.2.8. Vitamin B9 (Folik Asit)

Folik asidin biyolojik aktif şekli 5,6,7,8-tetrahidro pteroil glutamik asit yapısına sahip olan tetrahidrofolik asit'tir. Bu nedenle folik asit provitamin olarakta görülmektedir. B9 vitamini eksikliğinde; DNA sentezi bozulur ve glisin ve serinin birbirine dönüşümü zorlaşır (NRC, 1987; Girard, 1998) Metiyonin ve homosistein ilişkileri bozulur buna bağlı olarak metil gruplarının transferi zorlaşacağından, histidin metabolizması aksamasına neden olur. Normal eritropoiezinin şekillenmesi için folik asidin B₁₂ vitamini ile birlikte bulunması gerekmektedir. Folik asit eksikliğinde büyüme geriler ve hücre bölünmesi aksar, hemoglobin düzeyi düşer ve kemik iliğinde megaloblastların morfolojik yapılarında değişiklik meydana gelir. Lökosit ve trombosit oluşumu bozulmaktadır. Hayvanlarda mide bağırsak mukozasında ülserleşme, kıl dökülmesi ve kanatlılarda dermatitis şekillenir (Elliot, 1981; Girard ve ark., 1994).

Ruminantlarda B9 vitamininin büyük oranı rumende üretilirken, az bir miktarı da yemlerle alınabilir (soya, bazı meyveler gibi) (Girard ve ark., 1995, NRC, 2001). Bazı antibiyotikler, sulfonamidler ve mikotoksinler B9 vitamini seviyesini düşürürken, yüksek konsantre yemler artışına neden olur. Parenteral folik asit enjeksiyonları süt verimi ve süt proteininde artışa neden olur (Dong ve Oace, 1975). Buzağılarda diyetle 0.39 mg/liter folik asit ilavesi eksiklik belirtilerinin oluşmasına engel olur (NRC, 2007).

1.2.9. Vitamin B12 (Kobalamin)

B12 vitamini yağlar, proteinler ve karbonhidratların metabolizmasına yardım ettiği gibi alyuvarların üretilmesinde de oldukça önemli rol oynamaktadır. Bakteriyele orijinli bir vitamin olup, bitkilerde bulunmaz. B12 vitamini suda eriyen diğer

vitaminlerden farklı olarak karaciğerde uzun bir süre depolanabilmektedir. Folik asit ile sinir hücrelerinin kılıflarının korunması, doğum defektlerinin önlenmesini sağlamaktadır (Johnson ve ark., 1950; Girard ve Matte, 1999; McDowell, 2000). Kobalamin vücut için gerekli olan kolin, metiyonin ve folik asitin üretiminde en önemli rolü oynar. DNA sentezi için de B₁₂ vitamini gereklidir. Noksanlığında, hücreler ve özellikle hücre çekirdekleri büyüdüğü halde bölünemez, çünkü DNA replikasyonu gerçekleşmez. B₁₂ vitamini sinir liflerinde myelinin yapılması ve korunmasını da sağlar (Halpin ve ark., 1984; Elitok ve ark., 2016).

Kobalamin sentezi için gerekli olan kobaltın dışarıdan alınması gerekmektedir. Rasyonda yeterince kobalt bulunmaması durumunda, rumende süksinik asit birikimi oluşur ve kan ve idrarda metilmalonik asit miktarında artışlar meydana gelir (Lateur, 1962; Kennedy ark., 1995). Depo edilebildiği için eksikliğine pek rastlanmaz. Fakat bazı bakteri türleri (*Streptomyces griseus*, *Escherchia coli* and *Propionibacterium shermanii*) ve parazitler (kanamaya sebep olurlar), kronik kanamalar (alyuvarların restorasyonunda kullanılacağından) B12 vitamini yetersizliğine neden olabilir. Yeme B12 vitamini takviyeleri sonucunda rumende emilim olmaz çünkü rumen bakterileri de B12 vitaminine fazlaca ihtiyaç duyarlar ve kullanırlar. Bu nedenle B12 vitamini eksikliği saptandığı durumlarda, enjektabl uygulamaların yapılması gerekmektedir. Süt buzağılarında rasyona ilave 0.34- 0.68 µg/kg vitamin B12 eksikliğini önlemek için yeterli miktardır (Friesecke, 1980).

Ruminantlarda, vitamin B12 emilimi aşağıdakileri gerektirir: (a) Diyet kobaltının yeterli miktarda diyetteki vitamin B12'nin (örneğin siyanokobalamin) çokluğu rumen mikroflora tarafından yok edilir (Girard ve ark., 2009); (B) gıda proteinlerinin sindirimi ve vitamin B12'nin salınması ve iç faktör üretimi için fonksiyonel bir abomasum; (C) protein sindirimi ve bağlı vitamin B12'nin salınması için işlevsel bir pankreas (tripsin salgısı); (D) fonksiyonel bir ileum (Radostits ve ark., 2008). İntrinsik faktör inekte gösterilmiştir, ancak koyun değil. B12 vitamini absorpsiyonunu azaltan faktörler, protein, demir ve vitamin B6 eksikliklerini içerir; Tiroid kaldırma/ hipotiroidizm; ve diyetle alınan tanik asit. Kobalamin analogları

sığırdaki toplam plazma B12 vitamininin% 50'sini oluşturabilir, ancak koyunlarda saptanamaz (Halpin ve ark., 1984).

B12 vitamininin depolanması esas olarak karaciğerde gerçekleşir. Diğer depolama alanları arasında böbrek, kalp, dalak ve beyin bulunur (Santschi, 2004). Lin ve ark. (201), vitamin B12 olarak ortaya çıkan karaciğer kobaltının oranının hayvanın kobalt durumuna göre değiştiğini bildirmiştir. Kobalt yiyen sığır ya da koyun otlaklarında, karaciğerdeki kobaltın çoğu B12 vitamini şeklindedir. Bununla birlikte, kobalt eksikliğinde karaciğer kobaltının yalnızca% 33'ü B12 vitamini şeklindedir. Bu, kobalt eksikliği sırasında, vitamin B12'nin karaciğerdeki diğer kobalt formlarına göre daha hızlı tükenmekte olduğunu gösterir (Latteur, 1962; Kennedy ve ark., 1995).

Diğer suda çözünen vitaminlerin aksine, B12 vitamini karaciğer ve diğer dokularda önemli miktarlarda depolanır ve kobalt tükenmesi zamanlarında rezerve neden olur. Akins ve ark. (2013), B12 vitamini için 32 günlük doku yarılanma ömrü bildirdi ve bu durum önemli miktarda doku deposu olduğunu gösteriyor. Normal karaciğer depoları olan sığır ve koyunlar, vitamin B12 eksikliği bulguları göstermeksizin birkaç ay boyunca kobalt eksikliği olan bir diyet tahammül edebilir.

Ruminantlarda, hem kobalt hem de B12 vitamini öncelikle dışkılardan atılır; küçük miktarlar idrarla atılır. Normal diyetlerle beslenen emzikli inekler dışkıdaki (esas olarak safra asitleriyle ilişkili) atılmış kobaltın% 86'sından% 87.5'e, idrarda% 0.9 ila% 1.0 arasında ve sütte% 11.5 ila% 12.5 oranında dışarı atılır (Smith ve Marston, 1970).

1.2.10. Rumen Protozoonları ve İşlevleri

Sığır lümeninde ikinci en yaygın mikrop (kütlece) ciliata protozoonlardır (Williams, 1986). Toplam protozoonların yaklaşık% 90'ını selülozun hidrolizi ve fermantasyonundan sorumlu *Entodiniomorpha* ailesine dahil cinsler

oluşturmaktadır (Yáñez-Ruiz ve ark., 2004). Bunlar içerisinde en yaygın türler ise, Epidinium, Entodinium, Diplodinium ve Holotrich ciliatlarıdır (Williams, 1986). Protozoonların bileşimi hayvanın rasyonu ile ilişkilidir; Farklı rasyon alımı, ruminal protozoonların miktarını ve kompozisyonunu büyük ölçüde etkiler. Bazı vakalarda holotrichlerin aslında bu koşullar altında geliştiği biliniyorsa da, açlık, tüm protozoal sayıları azaltma eğilimindedir (Jouany ve Ushida, 1999). Tylosin gibi besinsel katkı maddeleri, rumendeki protozoonların popülasyonunu arttırmaktadır (Purser ve ark., 1965).

Protozoonların sığır rüyasında oynadığı en büyük rolü, hayvanın normal olarak yapamayacağı malzemeyi sindirmektir. Hayvanın bitki materyalini, lipitleri ve proteinleri metabolize etmesine yardımcı olurlar (Weller ve Pilgrim, 1974; Emmanuel, 1974; Williams, 1986). Protozoonlar, rumen sıvısında bulunan küçük öncü molekülleri kullanarak uzun zincirli yağ asitlerini sentezleyebilirler. Fosfolipidlerin sterol esterleri ile lineolik asitler ekleyerek protozoonlardaki eksojen prekürsörlerden sentezlendiği düşünülmektedir (Bucholz ve Bergen, 1973). Rumende silinmiş protozoonların, rumende bitki materyali sindiriminin yaklaşık% 35'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir (De Meyer, 1981). Farklı türde protozoon bitki materyalinin farklı kısımlarını sindirir; Büyük protozoa, bitki yapısındaki polimerleri almamayı ve parçalamayı tercih ederken, küçük protozoa depolamalı polimerleri ve şekerleri kullanır (Atkin ve Amos, 1979). Epidinium gibi protozoonlar bitki materyali üzerine kolonize edildiğinde, bitki materyaline büyük miktarda hasar görülür (Orpin, 1983). Silindirler rumendeki bitki materyaline de yapışırlar ve onları dorsilateral yüzeyinde belirli bir organel kullanarak bazı şekerlere kemotaks yoluyla bulabilirler (Orpin ve Letcher, 1978). Bağlandıktan sonra bu siliatlar depolama şekerlerini, hemiselülozu, pektini ve daha az derecede selüloza zarar verebilir (Williams, 1986). Protozoonların protein metabolizması ve asimile etme kabiliyeti aynı zamanda hayvanın sağlığının anahtarıdır ve bunu diyet ve mikrobik proteinin parçalanmasıyla yapar (Coleman 1975; Coleman, 1980). Bu özellikle önemlidir, çünkü protozoonlar, konakçının diyetlerinin genellikle yetersiz olduğu birçok amino asit sentezleyebildikleri düşünülmektedir (Coleman 1975). Bunun tersi tarafında, protozoonlar aslında rumendeki protein için ana hayvanla zararlı bir şekilde rekabet

edebilir; Açlık çeken hayvanlarda özellikle geçerlidir ve iyi beslenen hayvanlarda önemsizdir (Williams, 1986).

Rumendeki protozoonların bakteriyel komşuları ile kısmen simbiyotik ilişkileri vardır. Rumendeki protistlerin hepsi aktif olarak bakteri besler ve beslerler, sindirimle oluşan atık ürünler rumene salınır ve mikrofloralar tarafından alınabilir (Coleman, 1975). Protozoonlar, oksijen alarak metanojenezin kolaylaştırılmasına yardımcı olurlar ve bu da anevrizma bakterileri ve arke'lerin metanogenezi yapmalarını sağlayan daha anaerobik bir ortam yaratır (Williams, 1986). Bunu, rumenin sıvı kısımlarından oksijen çıkararak ve daha sonra metanojenezin gerçekleştiği rüende bir ortam yaratan rumen retikulumuna hareket ettirerek yaptıklarını düşünüyoruz (Scott ve ark., 1983).

Protozoonların kendileri ev sahibi için bir beslenme kaynağı olarak da görev yapmaktadır; zira bunlar genellikle hayvan sindirim sistemi tarafından sindirilmektedir. Bakterilere kıyasla, rumen protozoonları yüksek oranda doymamış yağ asitleri içerir ve hayvan barınakları için önemli bir lipid kaynağı olduğu düşünülmektedir. Rumen sindirimindeki lipidlerin% 27'sine holotrich protistlerden geldiği düşünülmektedir (Keeney, 1970). Kılavuzlanmış protozoalar ayrıca, doymamış yağ asitlerini, bu yağ asitlerini zar fosfolipidlerine dahil ederek rumenden tamamen doymuş olmasını önlerler (De Meyer ve ark., 1978; Girard ve Hawke, 1978; Williams, 1986). Protozoonlar ev sahibi hayvanlar için de büyük bir protein kaynağıdır ve ineklerde mikrobiyal protozoa toplam proteinin yaklaşık% 20'sini sağlar (Coleman, 1979; Lobley, 1992). Protozoal protein, sığır rumende bakteri proteini ile aynı kompozisyonu paylaşır, ancak protozoal protein daha kolay sindirilir. Bu proteinlerin büyük bir yüzdesi (% 50) aşağıdaki dört amino asitten oluşur: glutamik asit, lösin lisin, izölösün (Johnson ve ark., 1944).

Doğum ve açlık gibi negatif enerji balansının olduğu durumlarda katabolik aktivitelere artış olur ve sonuç olarak lipoliz ve buna bağlı olarak non-esterifiye yağ asiti (NEFA) ve β -hidroksibutirik asit (BHB) konsantrasyonunda artışlar şekillenir (Yanez-Ruiz ve ark., 2004 2005). Oluşan bu NEFA ve BHB'lerin metabolize

edilmesinde B vitaminleri, özellikle B12 vitamini hayati rol oynamaktadır (Guyton ve Hall, 2006). Nitekim krebs siklusunda propyonatın succinyl-CoA'ya metabolize edilmesinde hayati rol oynayan mitokondrial bir enzim olan methylmalonyl-CoA mutaz'ın kofaktörü olarak B12 vitamini rol oynamakta ve oluşan NEFA ve BHB konstantrasyonlarının dengelenmesinde önemli rol oynamaktadır (Kennedy ve ark., 1995). Vitamin B12'nin kaynağı ise bilindiği üzere rumen mikroflora ve faunasıdır. Bu flora ve faunanın bozulmasına neden olan etmenler, B vitamini üretiminde aksamaya ve anılan NEFA ve BHB'lerin artışına yol açmakta, ketozis benzeri hastalıkların ortaya çıkışına zemin hazırlamaktadırlar (Preynat ve ark., 2009).

B kompleks vitaminler ruminal mikroflora ve fauna tarafından optimal şartların varlığında üretilmekte, bu konuda şekillenen yetersizlikler genellikle orall yolla rasyona B vitamin kompleksleri ilavesiyle giderilmeye çalışılmaktadır (NRC, 1989; McDowell, 2000; NRC, 2001). Oysa, optimal şartların kaybolduğu durumlarda B kompleks vitaminlerin oral yolla verilmesi oldukça sınırlı oranda eksikliği gidermekte ve B kompleks vitaminlerinin parenteral (intramüsküler/I.M.) yolla kullanımını zorunlu kılmaktadır (Lettendre ve ark., 1991). Bu çalışmada da I.M. yolla verilecek B kompleks vitaminlerinin ruminal protozoal üretime ve aktiviteye etkileri araştırılacaktır. Nitekim, ruminal protozoal aktivitenin artması, yemden gelen protein ve karbonhidrat yararlanımının daha yüksek olmasına ve verimin artışına yol açmaktadır (Safarkhanlou ve ark., 2016).

Ülkemizde yaygın olarak kullanılan B kompleks vitaminlerinin, önemli ekonomik kayıplara sebep olan rumen protozoonları üzerine tedavi edici özelliklerinin ilk defa araştırılacak olması ise oldukça önemli bilimsel ve ekonomik katkı sağlayacak verilerin elde edilmesine olanak sağlayacaktır. Ayrıca, rumen fauna ve florasının bozulmasıyla sonuçlanan olgular (asidoz, kokuşma, hipoaktivite gibi) B vitamini üretiminde azalmaya yol açtığından, bu eksikliğin ekzojen olarak giderilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu çalışmada; klinik olarak sağlıklı oldukları saptanan sığırlarda eksojen (I.M.) yolla verilen B kompleks vitaminlerinin rumen protozoonları, hematolojik ve kan biyokimyasal parametreleri üzerine etkilerinin

bilimsel verilerle tespiti, böylece bilim ve ülkemiz hayvan sağlığına önemli katkılar sunması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Çalışma Afyonkarahisar İli'nde halk elinde bulunan 6-18 aylık 20 baş sığırdan yapılmıştır (Çalışma rurubu). Klinik olarak sağlıklı 10 baş aynı yaş ve beslenme koşullarına sahip hayvan kontrol grubunu oluşturmuştur. B kompleks vitamini uygulamaları yapılan hayvanlar çalışma grubu hayvanlar diye nitelendirilmiş ve günde 1 defa olmak üzere 3 kez hayvanlara günde 10-20 ml i.m. yolla B kompleks vitamini enjeksiyonları yapılmıştır. Kontrol grubu hayvanlarda ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır. B kompleks uygulamaları yapılmaya başlandıktan sonraki 1, 3 ve 7. günlerde proje kapsamında aşağıda detayı verilen ölçümler yapılmıştır. Bu amaçla kontrol grubu ve çalışma gruplarıdaki hayvanlarda 1., 3, 7. günlerde klinik, rumen içeriği, hematolojik ve kan biyokimyasal parametreleri incelenmiştir.

Bu çalışma AKUHADYEK 503-15 referans numarasıyla, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu etik kuralları çerçevesinde yürütülmüş olup, 16.SAĞBİL.13 referans numarası ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPK) tarafından desteklenmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Rutin Klinik Muayeneler

Mahaline gidilerek tespit edilen hayvanların B kompleks vitaminleri uygulamasından önce ve sonrasında inspeksiyon, vücut sıcaklıkları, solunum ve kalp frekansları, rumen kontraksiyonlarının sayısı, kuvveti gibi rutin klinik muayeneleri yapılmıştır. Elde edilen veriler kaydedilerek istatistiki değerlendirmeye tabii tutılmak üzere muhafaza edilmiştir.

2.2.2. Hematolojik Muayeneler

Klinik muayeneleri müteakip kontrol grubu ve çalışma ve hayvanlarda B komplek vitamini uygulamalarından önce ve sonrasında 1., 3. ve 7. günlerde EDTA'lı kan tüplerine kan alınmış, alınan kanlar aynı gün içerisinde ve en kısa sürede laboratuvara gönderilmiştir. Bu kan örnekleri kan sayım cihazında sayım solüsyonları kullanılarak sayılmıştır. Elde edilen veriler kaydedilerek, ileriki aşamalarda kontrol grubu değerleriyle karşılaştırılmak üzere istatistiki değerlendirmeye tabii tutulmuştur. Hematolojik muayene amacıyla alınan kan örneklerinde; eritrosit, total lökosit, hematokrit, hemoglobin, MCV, MHC, MCHV gibi hematolojik muayeneler Anabilim Dalımız kan sayım cihazında (Mindray BC2800 Vet. Model) ticari test kitleri kullanılarak ölçülmüştür.

2.2.3. Serum Biyokimyasal Muayeneleri

Bu amaçla mahaline gidilerek kontrol ve çalışma grubu olarak belirlenmiş hayvanlarda B kompleks vitaminleri uygulanmadan önce ve sonrasındaki 1., 3. ve 7. günlerde V. jugularis yoluyla tüplere kan örnekleri toplanmıştır. Alınan kan örnekleri laboratuvara getirilerek burada serumları çıkartılmış, çıkarılan serumlar eğer hemen ölçüm yapılmayacaksa godelere alınarak, +4 santigrat derecede muhafaza edilmiştir. Kan biyokimyasal muayenelerinde; serum AST, ALP, LDH, OCT, SDH (SDH, kendi imkanlarımızla sağladığımız spektrofotometrede (SHIMADZU UV-1800) 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçtürülmüştür), total protein, albümin, glukoz, TB, DB, gibi parametreler ticari kitler kullanılarak Anabilim Dalımız otoanalizatöründe (Roche marka Cobas C111 Model) yapılmıştır.

2.2.4. Rumen Sıvısı Muayeneleri

Sonda ile alınan taze rumen içeriklerinde; pH (Mulristix 10 SG-Bayer®-Almanya/ kendi imkanlarımızla temin edilmiştir) metilen mavisi testi, total infusoria sayısı ve

sedimentasyon testi ölçümleri mahalinde yapılmış, yapılmasına engel bir durum olduğunda ise, bu örnekler alınarak termosu konulmuş ve en kısa sürede içerisinde tetkikleri yapılmıştır. Rumen sıvısı analizlerinde ayrıca protozoonların hareketleri, büyüklükleri incelenmiş, önemli görülen olgular not edilmiştir.

Rumen sıvısı analizlerinde metilen mavisi testi, total infusoria sayısı ve sedimentasyon testi yapılmıştır:

2.2.4.1. Rumen Sıvısında Metilen Mavisı Testi

Uygulanan prosedür şöyledir: İki adet cam tüp alınır. Birinci tüp kontrol amacıyla rumen sıvısıyla doldurulur. İkinci cam tüpe %0,03'lük metilen mavisinden 1 ml alınır. Üzerine vücut sıcaklığındaki rumen sıvısından 20 ml konur ve tüp alt- üst edilir. Renk kayboluncaya dek geçen süre saptanır. Normal <3 dakika olarak değerlendirilir. (Hungate, 1966).

2.2.4.2. Rumen Sıvısı Total İnfusoriya Sayımı

Rumen protozoonlarının total sayısını bulmak için, alınan rumen sıvısı örnekleri, Boyne ve ark.(1957) tarafından modifiye edilen, rumen içeriğini sulandırma ve protozoonları tespit etme yöntemi kullanılmıştır. Buna göre; protozoon sayımı için hazırlanmış eriyikten (bileşim: 150 ml gliserin, 20 ml formol, 820 ml bidistile su) 49 ml alınıp üzerine iki katlı tülbent bezinden süzölmüş rumen sıvısı örneğinden 1 ml konmuş ve McMaster lamının her iki boşluğu bu karışım ile doldurulduktan sonra sayım yapılmıştır. Her iki boşluktaki total rumen protozoonu sayısı ikiye bölünerek ortalaması alınmıştır. Bir mililitre rumen sıvısındaki total protozoon sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanacaktır:

1 ml rumen sıvısındaki total protozoon sayısı =sayılan protozoon sayısı × sulandırma oranı × 1000/150

2.2.4.3. Sedimentasyon Testi

Tüplere alınan rumen içeriğindeki kaba partiküllerin çöküş süreleri ölçülerek içeriğin aktivitesi değerlendirilmiştir. Rumen sıvısında sedimentasyon testi Hungate (1966) tarafından bildirilen yöntemine göre manuel olarak yapılmıştır. Bu metoda göre; tüplere alınan rumen içeriğindeki kaba partiküllerin çöküş süreleri ölçülerek içeriğin aktivitesi <5 dakika üzerinden değerlendirilmiştir.

Yukarıda anılan ölçümlerin hepsi çalışma ve kontrol gurubu hayvanlarda B kompleks vitaminleri uygulamadan önce (kontrol gurubu hayvanlar) ve sonrasındaki 1., 3. ve 7. günlerde tekrar edilmiştir.

2.2.5. İstatistiksel Analizler

Bununla birlikte gruplar arasındaki farklılıkları test etmek için tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ve Duncan Testi uygulanacaktır. Ayrıca, aynı bireylere ilişkin farklı zamanlardaki ölçümlerin karşılaştırılmasında tekrarlı ölçümler için varyans analizi (Repeated Measures ANOVA) kullanılacaktır. Araştırmada elde edilecek verilerin yapısı çerçevesinde, yukarıda belirtilen parametrik testlerin non-parametrik karşılıkları da kullanılabilir. Araştırmada yapılan analizlerde anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınacak olup, elde edilen verilerin analizinde SPSS 18.0 for Windows paket programı kullanılacaktır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada yaşları 6-18 ay arasında değişen toplam 30 baş (kontrol n=10, çalışma grubu n=20) sığır kullanılmıştır. Çalışma grubunu oluşturan 20 hayvanın 10 tanesi dişi, 10 tanesi erkek olup, çalışma grubu yaş ortalaması 13.2 ± 3 ay olarak saptanmıştır. Kontrol grubunu oluşturan 10 baş sığırın 3 tanesi dişi, 7 tanesi erkek hayvan olup, yaş ortalamaları 13.3 ± 2 olarak saptanmış, iki grubun yaş ortalamaları arasında istatistikî açıdan önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Anılan çalışma grubu hayvanlara günde 1 defa olmak üzere 3 gün boyunca hayvanlara günde 10-20 ml i.m. yolla B kompleks vitamini enjeksiyonları (MULTİKOM-B, Çelikler İlaç San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara/Türkiye) yapılmıştır. Çalışma başladıktan 1, 3 ve 7. günlerde tekrarlayan ölçümlerde elde edilen bulgular, aşağıda gösterildiği üzere; klinik, rumen içeriği, hematolojik ve biyokimyasal bulgular başlıkları altında incelenmiştir.

3.1. Klinik Muayene Bulguları

Materyal ve metot bölümünde belirtilen yöntemler göz önüne alınarak çalışmanın materyalini oluşturan toplam 30 baş sığırda (Kontrol ve Çalışma grupları) tekrarlayan rutin klinik muayeneler yapılmış ve sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde çalışmanın materyalini oluşturan tüm hayvanlarda (Kontrol Grubu + Çalışma Grubu) tüm ölçüm zamanlarında (Kontrol grubu ve çalışma sonrası 1, 3 ve 7. günlerde) vücut sıcaklığı, solunum ve kalp frekanslarının normal sınırlar içerisinde olduğu ve gruplar arası ve farklı zaman dilimlerinde de istatistiksel açıdan önemli farkların gerçekleşmediği ($p>0.05$) gözlenmiştir. Ancak 5 dakikadaki rumen hareketleri bakımından elde edilen değerler normal sınırlar içerisinde olmakla birlikte, çalışma grubu hayvanlarda 5 dakikadaki rumen hareketi ortalamalarının kontrol grubu ortalamalarından istatistikî açıdan önemli yüksek olduğu ($p<0.05$), zaman aralıkları açısından incelendiğinde en yüksek düzeylerin 7. günde ölçüldüğü gözlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan hayvanların vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansları ile rumen hareketleri açısından karşılaştırılması

Gruplar/Parametre	Kontrol	1. gün	3. Gün	7. Gün	Referans*	P
T (°C)	38,81± 1.42	38.74 ± 1.66	38.60 ± 1.67	38.56 ± 1.44	37.5-38.6	>0.05
P (frekans/dk)	94±6	95±5	96 ±6	96 ±5	70-120	>0.05
R (frekans/dk)	26±3	27±2	27±3	26±3	15-30	>0.05
Rumen hareketleri (hareket/5 dk)	7± 2 ^c	10 ± 2 ^b	10 ± 3 ^b	12± 2 ^a	6-12	<0.05

^{a,b} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0.05$). *İmren (1997).

3.2. Rumen Sıvısı Bulguları

Bu çalışmada rumen sıvısı analizlerinden elde edilen bulguların istatistiki değerlendirmesi Tablo 2’de gösterilmiştir. Bu amaçla ölçümü yapılan hayvanlarda değerlendirmeye alınan parametreler ve elde edilen sonuçlar aşağıda alt başlıklar halinde verilmiştir.

3.2.1. İnfusoria Sayısı Bulguları

Tablo 2 incelendiğinde infusoria sayılarının çalışma grubunun diğer günleri ve kontrol grubu ortalamalarına göre 7. günde (320.30 ± 104.90) en yüksek seviyeye ulaştığı ve bu yüksek seviyelerin kontrol ve çalışma gruplarına ait infusoria sayıları ortalamaları arasında istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) farklar olduğu gözlenmiştir.

3.2.2. Metilen Mavisi Testi Bulguları

Metilen mavisi testi analizlerinden elde edilen bulguların istatistiki değerlendirmesi Tablo 2’de gösterilmiştir. Tablo 2 incelendiğinde; çalışma sonrası 7. gün metilen mavisi ortalamalarının kontrol grubu ve çalışma grubu 1 günlerdeki metilen mavisi

ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$). farklar olduğu gözlenmiştir.

3.2.3. Sedimentasyon Testi Bulguları

Rumen sıvısı sedimentasyon testi analizlerinden elde edilen bulguların gösterildiği Tablo 2 incelendiğinde, yukarıdaki bulgulara benzer bir şekilde 3 ve 7. (bu iki grup arasında istatistiki açıdan bir fark gözlenmemiştir $p>0.05$) günlerde yapılan ölçümlerden elde edilen ortalamaların kontrol grubu ve çalışma grubu 1. gün ortalamalarından (bu iki grup arasında istatistiki açıdan bir fark gözlenmemiştir $p>0.05$) istatistiki açıdan önemli ($p<0.05$) farklılıklar arz ettiği gözlenmiştir.

Tablo 2. Kontrol ve çalışma grubundaki buzağuların rumen sıvısı istatistiki analiz sonuçları.

Gruplar	pH	İnfüsovia (mm ³)	Metilen Mavisi Testi (dk)	Sedimentasyon Testi (dk)
	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
Kontrol	7.00±0.00	162.80±60.40 ^b	3,60±0,50 ^a	3,15±0,50 ^b
1. Gün	7.00±0.00	250.30±90.20 ^{bc}	3,50±0,90 ^a	4,10±0,70 ^a
3. Gün	7.10±0.00	230.60±88.80 ^b	2,80±0,70 ^b	4,20±0,60 ^a
7. Gün	7.10±0.00	320.30±104.90 ^a	2,70±0,60 ^b	4,30±0,80 ^a
P	$p>0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$

a,b,c Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark zaman bakımından önemlidir ($p<0,05$).

3.3. Hematolojik Muayene Bulguları

Kontrol ve çalışma gruplarının tüm zaman aralıklarında hematolojik parametreleri ile ilgili elde edilen veriler Tablo 3'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde; B kompleks vitamini uygulamalarının eritrosit sayısı başta olmak üzere hematolojik parametrelerde önemli bazı değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Yapılan ölçümlerden elde edilen verilere göre; çalışma grubu RBC ortalamalarının tüm zaman dilimlerinde (Tablo 3) kontrol grubu ortalamasına ($5,10 \pm 0,60$) göre istatistiki açıdan önemli derecede $p < 0,05$ yüksek olduğu, ancak bu yüksekliğe rağmen referans sınırlar içerisinde olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde WBC ortalamasının açısından bakıldığında; kontrol grubu ortalaması ($8,20 \pm 2,20$) ile çalışma grubu tüm zaman dilimlerindeki ortalamaları (Tablo 3) arasında sayısal ve istatistiki açıdan önemli farklılıklar ($p < 0,05$) gözlenmesine rağmen, tüm ortalamaların yine referans sınırlar içerisinde yer aldığı gözlenmiştir. Yine çalışma grubu WBC ortalamalarının kendi arasındaki karşılaştırmaları incelendiğinde, zaman dilimleri açısından istatistiki açıdan önemli bir fark oluşmadığı ($p > 0,05$) gözlenmiştir. Çalışmada ölçümü yapılan hematolojik parametrelerden biri olan HGB açısından Tablo 3 incelendiğinde; HGB düzeyi ortalamalarının çalışma grubunun 3 ve 7. günlerinde ölçülen değerlerin ortalamalarının (sırasıyla $13,30 \pm 2,10$; $13,60 \pm 1,10$) 1. gün ve kontrol grubu ortalamalarından (sırasıyla $12,38 \pm 1,10$; $8,16 \pm 1,10$) istatistiki açıdan önemli derecede ($p < 0,05$) yüksek olduğu görülmüştür. Ancak burada yine 1. gün ortalamasının ($12,38 \pm 1,10$) yine kontrol grubu ortalamasından ($8,16 \pm 1,10$) istatistiki açıdan önemli derecede ($p < 0,05$) yüksek olduğu kaydedilmiştir. Aynı tablo HTC değer açısından incelendiğinde HGB düzeyi ortalamalarının tersi bir durum söz konusu olduğu, ancak farkın istatistiki açıdan önemli derecede olmadığı ($p > 0,05$) görülmüştür. Çalışma grubu 7. gün MCV ortalamasının ($64,40 \pm 8,90$) diğer zaman dilimleri ve kontrol grubu ortalamalarından, 1. ve 3. gün MCV ortalamalarının (sırasıyla $62,94 \pm 9,60$; $62,06 \pm 9,88$) ise kontrol grubu ortalamasından ($52,67 \pm 8,20$) istatistiki açıdan önemli derecede $p < 0,05$ yüksek olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde MCHC konsantrasyonu ortalamalarının çalışma grubu tüm zamanlarında (1,3 ve 7. günler sırasıyla $32,28 \pm 2,42$; $34,20 \pm 3,68$; $34,68 \pm 2,38$) kontrol grubu ortalamasından ($30,40 \pm 2,60$) yüksek olduğu ve istatistiki açıdan bu

yüksekliğin önemli ($p<0.05$) olmakla birlikte referans sınırlar (26-36 g/dL) içerisinde olduğu saptanmıştır. Ancak ölçümü yapılan MCH açısından farklı zaman dilimlerindeki ölçüm ortalamaları ve gruplar arası karşılaştırmalar yapıldığında önemli değişiklikler saptanmamıştır ($p>0.05$). Tablo 3 incelendiğinde nötrofil sayısının tüm grup ve zaman dilimlerinde fizyolojik sınırların biraz üzerinde olmakla birlikte, kontrol grubu nötrofil düzeyi ortalamasının ($5,20\pm 1,80$) diğer tüm zaman dilimi grup ortalamalarından (1, 3 ve 7. gün ortalamaları sırasıyla $6,33\pm 2,18$; $6,24\pm 2,30$; $6,32\pm 2,18$) istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu olduğu görülmüştür.

Tablo 3. Hematolojik muayene bulguları istatistiki analiz sonuçları

Gruplar	WBC (10 ³ / µL)	RBC (10 ⁶ / µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fl)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ³ / µL)	MCH (pg)	LENF (10 ³ / µL)	MONO (10 ³ / µL)	NOTR (10 ³ / µL)	EOS (10 ³ / µL)	BAS (10 ³ / µL)
	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
Kontrol	8,20± 2,20 ^b	5,10± 0,60 ^b	8,16± 1,10 ^b	26,80± 5,00 ^b	52,67± 8,20 ^c	30,40± 2,60 ^c	226,80± 19,48 ^c	16.10± 1,76 ^b	4,40± 0,40	0,72± 0,04	5,20± 1,80 ^b	1,48± 0,40	-
1. Gün	9,80± 2,40 ^a	6,10± 0,40 ^a	12,38± 1,10 ^a	38,40± 4,60 ^a	62,94± 9,60 ^{ab}	32,28± 2,42 ^b	240,30±34,30 ^b	20,22±2,64 ^a	4,30± 0,60	0,70± 0,03	6,33± 2,18 ^a	1,65± 0,80	-
3. Gün	9,70± 2,60 ^a	6,30± 0,60 ^a	13,30± 2,10 ^a	39.10± 5,40 ^a	62,06± 9,88 ^{ab}	34,20± 3,68 ^a	242,12±42,10 ^b	21,10± 3,06 ^a	4,10± 0,80	0,70± 0,04	6,24± 2,30 ^a	1,63± 0,46	-
7. Gün	9,90± 2,30 ^a	6,20± 0,60 ^a	13,60± 1,10 ^a	39.09± 4,80 ^a	64,40±8,90 ^a	34,68± 2,38 ^a	284,28±43,26 ^a	21,78± 2,20 ^a	4,30± 0,30	0,72± 0,02	6,32± 2,18 ^a	1,62± 0,66	-
Referans*	6-12	5-8	8-14	24-46	37-54	26-36	175-620	11-17	3-7.5	0.1-1.5	1.5-5	0.1-1.5	N
P	< 0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05).
N: Nadiren. * Filder (2016).

3.4. Metabolik Profil Bulguları

Ölçümler sonucu elde edilen kan serumu biyokimyasal bulgularının ortalamaları Tablo 4'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde; AST enzim düzeyi ortalamalarının referans sınırlar içerisinde (78-132 IU/L) yer almakla birlikte 3. günde en yüksek ortalamanın ($123.43 \pm 32,22$) elde edildiği, bu düzeylerin kontrol grubu ortalamalarından ve diğer ölçüm zamanları ortalamalarından istatistiki açıdan önemli derecede yüksek ($p < 0.05$) olduğu, ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1 ve 7. gün ortalamalarının da istatistiki açıdan önemli derecede ($p < 0.05$) yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 4). SDH düzeyi ortalamaları açısından tablo incelendiğinde; en yüksek ortalamaların 3 ve 7. günde (sırasıyla $11.24 \pm 1,60$; $11.32 \pm 1,88$) elde edildiği, 1. gün ortalamaları dahil ($10.44 \pm 2,20$) çalışma grubu tüm zaman dilimi ortalamalarının kontrol grubu ortalamasından ($9.12 \pm 2,04$) yüksek ve farkın istatistiki açıdan önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır. ALP düzeyi ortalamaları açısından çalışma grupları ortalamaları arasında istatistiki açıdan önemli farklar gözlenmezken ($p > 0.05$), çalışma grubu ortalamalarının tümünün (Tablo 4) kontrol grubu ortalamasından ($121.32 \pm 23,18$) istatistiki açıdan önemli derecede ($p < 0.05$) yüksek olduğu gözlenmiştir. LDH ve OCT düzeyleri açısından aynı tablo incelendiğinde, çalışma grubu tüm zaman ortalamalarının kendi içinde ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplararası ve grup içi istatistiki açıdan önemli bir farkın oluşmadığı ($p > 0.05$) gözlenmiştir. Üre (UREA) düzeyi ortalamalarının tüm gruplarda referans sınırlar içerisinde yer almakla birlikte 3. günde en yüksek ortalamanın ($46.32 \pm 6,04$) ölçüldüğü, bu düzeylerin kontrol grubu ortalamalarından istatistiki açıdan önemli derecede yüksek ($p < 0.05$) olduğu, ancak grup içi değerler karşılaştırıldığında; grup içi ortalamalarının (Tablo 4) istatistiki açıdan önem arz etmediği ($p > 0.05$) saptanmıştır.

TP, ALB ve CREA konsantrasyonları ortalamaları açısından çalışma grupları ortalamaları (Tablo 4) arasında istatistiki açıdan önemli farklar gözlenmezken ($p > 0.05$), çalışma grubu ortalamalarının tümünün kontrol grubu ortalamasından (sırasıyla 6.15 ± 0.10 ; $2.94 \pm 0,42$; 1.22 ± 0.14) istatistiki açıdan önemli derecede

“(p<0.05) yüksek olduğu gözlenmiştir. GLU konsantrasyonu ortalamalarının ilginç bir şekilde birlikte 3. günde en düşük (4.76 ± 1.32) ölçüldüğü, bu düzeylerin kontrol grubu ortalamalarından ve diğer ölçüm zamanları ortalamalarından istatistiki açıdan önemli derecede düşük (p<0.05) olduğu, ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1 ve 7. gün ortalamalarının da (Tablo 4) istatistiki bakımdan önemli derecede (p<0.05) düşük olduğu gözlenmiştir.

TB ve DB konsantrasyonları açısından Tablo 4 incelendiğinde; 3. günde en yüksek ortalamaların ölçüldüğü, bu düzeylerin kontrol grubu ortalamasından (sırasıyla 0.32 ± 0.03 ; 0.08 ± 0.001) ve diğer ölçüm zamanları ortalamalarından (Tablo 4) istatistiki açıdan önemli derecede yüksek (p<0.05) olduğu, ayrıca kontrol grubu ortalaması ile karşılaştırıldığında 1 ve 7. gün ortalamalarının da (Tablo 4) istatistiki açıdan önemli derecede (p<0.05) yüksek olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.. Metabolik profil parametreleri ortalamalarının istatistiki karşılaştırılması

Gruplar	AST (IU/L)	SDH (IU/L)	ALP (IU/L)	LDH (IU/L)	OCT (IU/L)	UREA (mg/dL)	CREA (mg/dL)	TP (g/dL)	ALB (g/dL)	GLU (mg/dL)	TB (mg/dL)	DB (mg/dL)
	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
Kontrol	102.28±20,10 ^d	9.12±2,04 ^b	121.32±23,18 ^b	1246.78±90.52	178.20±12.28	40.12±50,22 ^b	1.22±0.14 ^b	6.15±0.10 ^b	2.94±0,42 ^b	6.72±1.28 ^a	0.32±0.03 ^d	0.08±0.001 ^d
1. Gün	116.13±24,40 ^c	10.44±2,20 ^{ab}	132.42±36,26 ^a	1240.20±88.30	176.68±14.24	45.24±5,10 ^a	1.86±0.20 ^a	6,96±1.12 ^{ab}	3,40±0,42 ^{ab}	5.45±1.30 ^b	0.56±0.02 ^c	0.10±0.001 ^c
3. Gün	123.43±32,22 ^a	11.24±1,60 ^a	134.32±40,40 ^a	1254.16±72.12	177.30±10.10	46.32 ±6,04 ^a	2.02±0.48 ^a	7,84±1,40 ^a	4,24±0,38 ^a	4.76±1.32 ^c	0.70±0.02 ^a	0.13±0.001 ^a
7. Gün	121.68±36,20 ^b	11.32±1,88 ^a	136.42±38,30 ^a	1260.44±80.00	183.22±14.20	45.24±6,12 ^a	1.96±0.32 ^a	7.56±1,28 ^a	4.36±0,26 ^a	5.12±1.44 ^b	0.62±0.01 ^b	0.12±0.001 ^b
Referans*	78-132	4.3-15.3	90-170	<1500	205±135	42.8-64.2	1-2	6.7-7.5	3.0-3.6	4.5-7.5	0.1-0.5	0.04-0.14
P	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

^{a,b,c,d} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05). * Altıntaş ve Fidancı (1993).

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

B kompleks vitaminleri terimi, sadece bir vitamini nitelememekte tiamin, riboflavin, niasin, pantotenik asit, folik asit, vitamin B6, vitamin B12, biyotin ve kolin gibi sığırlar dahil tüm canlıları için elzem olan kompleks bir vitamin grubunu ifade etmektedir (Lee ve ark., 1985; Cole ve ark., 1982; Dubeski ve ark., 1996; Harmeyer ve Kollenkirchen, 1989).

Sınırlı rezervleri nedeniyle stres veya hastalığa bağlı olarak vücuttaki B vitaminlerinin eksiklikleri söz konusu olabilmektedir. Ayrıca enfeksiyonla mücadele ve bağışıklık sisteminin aktive edilmesi amacıyla B vitaminlerini hızla tükendiği ve B vitaminlerinin açığının söz konusu olabileceği bildirilmektedir (Dubeski, PL ve ark., 1996). B vitamin enjeksiyonlarının, buzağularının immun sistemi üzerinde önemli pozitif etkiler oluşturduğu bildirilmiştir (Silzell ve ark., 2002).

Mikrobiyal sentez yeteneğine sahip, kendi B kompleks vitaminlerini üretme yeteneğine haiz sığırlarda anılan bu B kompleks vitaminlerinin diyet takviyelerine ihtiyaç bulunmadığı uzun süredir düşünülüyor olsa da, son yıllardaki araştırmalar B kompleks vitaminlerinin ruminal sentezlerinin bugünkü sığırları (özellikle süt sığırlarının) optimal üretimi ve sağlığı için yeterli olmayabileceğini ortaya koymaktadır (Santsch, 2004).. Nitekim B vitaminlerinin çoğunun mikrobiyal sentezi artan enerji alımıyla artmakta ve rasyona B vitamini katkılarının olması durumunda rumen bakterileri B vitamini sentezini azaltmaktadırlar. Ayrıca yemlere ilave edilen kolin rumende tamamen yıkımlanması sorunu bulunmaktadır (Lardinois ve ark., 1944; LeKlem, 1991). Yine B kompleks vitaminlerinden olan B12 vitamininin yemlere ilavesinin, metiyonin mevcut olmadığı durumlarda kan B12 seviyelerinde önemli artışa yol açmadığı, ancak metiyonin mevcudiyetinde rasyondaki vitamin B12 emiliminin söz konusu olabileceği ve kan serumu seviyelerinde artış gözlenebileceği bildirilmektedir. Rasyona ilave edilecek metiyoninin ise rumen korunaklı olması zorunludur. Benzer durumun kobalt (Co) eksikliğinde de oluşması söz konusudur. Ancak bu maddelerin rasyonda uygun düzeyde bulunmaları ve

sindirim sistemi kanalının optimal şartları söz konusu olduğunda B12 vitamininin oral yolla kullanımının erken laktasyondaki süt üretimini artırabileceği, aksi durumda verim parametreleri üzerine önemli artışlarının söz konusu olamayacağı vurgulanmaktadır (Latteur, 1962; Lin ve ark., 2010; Safarkhanlou ve ark., 2016). Bu nedenlerle bizim araştırmamızda B kompleks vitaminlerinin İM yolla kullanılması tercih edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalar (Letendre ve ark., 1991; Loble ve ark., 1996; Luce ve ark., 1985) B kompleks vitaminleri enjeksiyonlarının tabletler, jeller veya sıvılardan daha etkili olduğunu kanıtlamıştır (Letendre ve ark., 1991; Dubeski ve ark., 1996; Akins ve ark., 2013). Nitekim sindirim sistemi, mide asidi ve enzimler tablet veya jel şeklinde tüketilen B vitaminlerinin moleküler yapısını bozmaktadır. Ancak enjeksiyon durumunda ne asitler ne de enzimler vitaminlerin moleküler yapısına etki edememektedir. Bu durum, B vitaminlerinin emiliminin ve tutulumunun daha yüksek oranda daha hızlı ve etkili sonuçlanmasını sağlamaktadır. Yukarıda anılan sebeplerle birçok ülkede B vitamini enjeksiyonları diyet takviyelerine tercih edilmektedir.

Intramüsküler yolla B kompleks vitamini uygulamaları yaptığımız bu çalışmada çalışma grubu materyalini oluşturan hayvanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; vücut sıcaklıkları, solunum ve kalp frekansları ortalamalarının istatistiksel bakımdan önemli farklılıklar göstermediği ($p>0.05$), ancak 5 dakikadaki rumen kontraksiyonu sayısı açısından çalışma grubu tüm zaman dilimlerinde elde edilen ortalamaların kontrol grubu ortalamasından istatistiki açıdan önemli derecede yüksek olduğu ($p<0.05$) gözlenmiştir (Tablo 1). Elde edilen bu bulgular B kompleks vitaminlerinin sinir sistemini uyarıcı etkilerinin olduğunu ve kas kontraksiyonlarında artışa yol açarak motilite artışına yol açtığını bilidren araştırmacıların (Garosi ve ark., 2003; Gibson ve Zhang, 2002) bildirdikleri ile uyum içerisindedir.

Yeri gelmişken söylemek gerekirse; yaptığımız geniş çaplı literatür taramalarına rağmen, ruminal mikrosistem ve B kompleks vitaminleri uygulamaları ile ilgili çok sayıda literatür bilgiye ulaşmamıza rağmen, konumuzla yani ekzojen İ.M. yolla verilen B kompleks vitaminlerinin rumen mikroflora ve faunası üzerine etkilerinden bahseden bir kaç çalışmaya (Letendre ve ark., 1991; Dubeski ve ark.,

1996; Safarkhanlou ve ark., 2006) rastlamakla birlikte, bizim çalışmamızda ilişkisini ortaya koymayı amaçladığımız rumen parametreleri ile doğrudan ilgili olmadıklarını saptadık. Bu durum bir taraftan bu çalışmanın orijinalliğini ortaya koymakla birlikte, tartışma ve sonuç bölümünde literatür karşılaştırmasının sınırlı literatürlerle yapılması zorunluluğunu ortaya koymuştur. Bu yönüyle çalışmamız, bu alanda yapılacak çalışmalara önemli bir referans teşkil edecek olması açısından önem arz etmektedir.

Bizim çalışmamızda elde edilen verilere bakıldığında B kompleks vitaminleri uygulaması yapılan hayvanlarda 7. günde rumen total infüzyoya ortalamalarının (Tablo 2) kontrol grubu ve diğer zaman periyodlarında (çalışmanın başlamasından sonraki 1 ve 3. günler) elde edilen ortalamalara göre istatistiksel açıdan önemli derecede ($p < 0.05$) yüksek olduğu, benzer şekilde metilen mavisi ve sedimentasyon testi ortalamalarının 7. günde diğer zaman periyodlarına göre istatistiksel açıdan önemli derecede ($p < 0.05$) kısaldığı, intramüsküler uygulanan B kompleks vitaminlerinin rumen mikroflora ve faunası üzerinde önemli pozitif değişikliklere yol açtığı gözlemlenmiştir. Rumen içeriği ile ilgili olarak elde edilen bu bulgular, ekzojen B kompleks vitamini uygulamalarının rumen içeriği kompozisyonundaki etkilerinin uygulamayı takip eden 1. gün ile birlikte başlamakla birlikte tedricen bir artışla 7. günde en yüksek düzeyine ulaştığını, yani B kompleks vitaminlerinin rumen içeriği üzerine olumlu etkilerinin bir süreç aldığını ortaya koymaktadır. Elde ettiğimiz bu bulgular, sindirim sisteminin anatomik adaptasyonu, ruminal mikroorganizmaların bu tür ürünleri üretebilmeleri nedeniyle, dış kaynaklı B vitamini kompleksi (Santschi, 2004; Santschi ve ark., 2005) veya esansiyel amino asitler gerektirmeden selülozu bir enerji kaynağı olarak kullanmalarını sağladığını bildiren çalışmayı destekler niteliktedir (Cole ve ark., 1982). Nitekim, rumende bakım için gerekli olan mikroorganizmalar ve substratların kurulması için gerekli ortamı sağlayan simbiyotik bir ilişki vardır. Buna karşılık, mikroorganizmalar ev sahibi ruminanta enerji üretmek için besin maddeleri sağlamaktadırlar (Girard ve Hawke, 1978)

Yapılan başka bir çalışmada (Santschi ve ark., 2005) B kompleks vitaminlerinin rumende mikrobiyal sindirim sonucu üretilen vitaminler olasına

rağmen, yeme B kompleks vitaminleri ilavesinin bağırsaklara geçen ve emilen miktarının B vitamin türlerine göre değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir. Anılan bu çalışmada, dört adet laktasyondaki Holstein ineği, ince bağırsaktan önce ve sonrasında ek verilen B vitamininin varlığını ölçmek için 2 gruba ayrılmış, çalışma grubu 1'de, numune toplama periyodundan 5 gün önce ve sırasında rasyona vitaminler ilave edilmiştir. Çalışma grubu 2'de ise, vitaminler, doğum öncesi ve 4. gün süresince postruminal olarak kanül yardımı ile verilmiştir. Çalışmanın sonunda çalışma grubu B vitaminleri değerleri çalışma grubu 1 ve 2'de sırasıyla tamamlanan vitamin miktarı (mg / d) şunlardı: tiamin: 300 ve 10; Riboflavin: 1600 ve 2.0; Niasin: 12.000 ve 600; Vitamin B6: 800 ve 34; Biyotin: 20 ve 0.02; Folik asit: 2600 ve 111; Vitamin B12: 500 ve 0.4. Çalışma 1'de (% 67.8 tiamin,% 99.3 riboflavin,% 98.5 nikotinamid,% 41.0 piridoksin,% 45.2 biyotin,% 97.0 folik asit ve% 62.9 vitamin B12) önemli derecede kaybolduğu gözlenmiştir. Oysa 2. çalışmada Nikotinamid ve folat hariç olmak üzere, duodenal kanül öncesi postruminal infüze vitaminlerin neredeyse hiç yok olmamasına rağmen (çalışma 2), yaygın ruminal yıkım ya da kullanım önermektedir. Görünür bağırsak absorpsiyon değerleri vitaminler arasında büyük farklılıklar göstermesine karşın, ince bağırsakta kaybolan vitaminlerin oranı takviyeden olumsuz bir şekilde etkilenmediği görülmüştür. Riboflavin ve niasin hariç, ince bağırsaktan kaybolan mutlak miktarlar, kontrol periyoduna göre tedavi sırasında daha fazladır; bu da, süt ineklerinde B vitamini arzının takviye yoluyla artırıldığını, ancak rumende kayıpların geniş olduğunu düşündürmektedir. Bu veriler göz önüne alındığında; bizim çalışmamızda kullanılan intramüsküller yolla ekzojen B kompleks vitaminlerinin uygulamalarının bağırsaktaki kayıpların önüne geçilmesi için önemli olduğu ortaya çıkmaktadır.

Bizim çalışmamızda verim gibi zootekni parametreleri alanımız dışında olduğu için ölçülmemekle birlikte, olası verim artışlarına da destek olacağı düşünülmektedir. Nitekim, yapılan bir çalışmada, parenteral B12 vitamininin süt sığırlarında süt üretimi üzerindeki etkisini belirlemeye çalışılmış, bu amaçla beş sorunlu sürü ve iki kontrol sürüsü için randomize kör bir deneme yapılmıştır. Her çiftlikte, laktasyondaki beş ineğe, kas içine 20 mg B vitamini enjekte edilmiş ve hayvanların süt üretimi, muameleyi takiben 19 gün boyunca ölçülmüştür. Bu süt

çiftliği üzerinde, parenteral vitamin B uygulamalarında sonra birkaç gün içinde süt üretiminin bu çiftlikte % 50 arttığı bildirilmiştir (Weber ve ark., 2001).

Yine Ruminal biyotin (B vit. türü) metabolizmasındaki protozoonların rolünü değerlendirmek için, ot samanlarından veya ot/tahıl tanecikleri karışımlarından oluşan beş diyet, sağladığı yararlar açısından ölçümlere tabii tutulmuş, normal fauna koşullarında, protozoonların doğrudan bakteri sentezini ve/veya biyotinin kullanımını kullandığını veya dolaylı olarak etkilediği sonucuna varılmıştır. Yüksek buğday diyetiyle gerçekleştirilen yüksek fermantasyon potansiyelli diyetlerle, protozoa yüksek kullanan veya düşük miktarda biyotin sentezleyecek bir bakteri popülasyonunun gelişimini önlediği görülmüştür. Bu durum şeker üretimini artırarak asidoz oluşumuna yol açacak konsantre yemlerin neden olduğu bakteri popülasyonundaki artışın, protozoonlar tarafından denegelenerek sayılarının azaltıldığını ortaya koymaktadır. Nitekim bu çalışma yüksek konsantre yemlerin protozoon popülasyonunda azalmaya yol açarak, H vitamini üretimini azalttığını bildirmektedir (Abel ve ark., 2006).

Bu çalışmada ölçümü yapılan hematolojik parametreler açısından çalışma grubu zaman dilimleri açısından önemli bir fark gözlenmemişken ($p>0.05$), kontrol grubu ortalamaları ile karşılaştırıldığında WBC, RBC, HGB, HTC, MCV, MHC, MHCH ortalamalarının, çalışma grubu tüm zamanlarında istatistiksel bakımdan daha yüksek olduğu ($p<0.05$), ancak LENF, MONO ve BAS ortalamalarının kontrol grubu ortalamaları ile farklılık arz etmediği ($p>0.05$), buna karşılık NOTR ve EOS düzeyi ortalamalarının yine çalışma grubu tüm zaman dilimlerindeki ortalamalarının bu parametreler açısından kontrol grubu ortalamalarından istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) yüksek olduğu, aynı şekilde NOTR düzeylerinin kontrol grubu ortalamalarının çalışma grubu tüm zaman ortalamalarından yüksek olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu bulgular göz önüne alındığında hücresel immün potansiyelin B kompleks vitaminleri uygulamasını müteakip arttığını, eritrosit ve hemoglobin düzeylerinin normal sınırlarda kalmakla birlikte yükseldiğini, EOS düzeylerindeki artışın normal sınırlarda kalmakla birlikte az da olsa B kompleks vitamini uygulamalarına allerjik bir yanıt olarak değerlendirilebileceği ve normal

sınırlar içinde olmakla birlikte NOTR düzeyindeki yükselmenin ise B kompleks vitamini uygulamalarını müteakip akut immün tepkinin uyarılması sonucu olabileceğini akla getirmektedir.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz hücresel immün düzeydeki artışı destekleyen bulgular Anadolu siyah keçileri ile yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Benzer sonuçların elde edildiği bu çalışma sağlıklı veya *Linognathus africanus* enfekte 8-10 aylık Anadolu siyah keçilerinin 20'sinde (her biri n = 10) yürütülmüştür. Çalışmada enfekte hayvanlara 40mL / keçi bir dozda intramusküler olarak vitamin B kompleksi (Benefor enj) uygulanmıştır. Kontrol grubu keçilere (n = 5) B vitamini kompleksi verilmemiştir. Tüm hayvanlara (n = 20) duyarlı hale getirildikten sonra hücresel bağışıklık yanıtı açısından aşırı duyarlılık reaksiyonu ölçülmüştür. B vitamini kompleksi verilen enfekte keçilerin *L. africanus* enfeksiyonunda azalma olduğu görülmüştür. B vitamini kompleksi verilmeyen diğer 5 adet enfekte kontrol grubu keçide, bit miktarında artış tespit edilmiştir. Çalışmanın sonunda B vitamini kompleksi uygulanan hayvanlarda canlı ağırlık artışının kontrol grubu keçilerinden yüksek olduğu anlaşılmıştır (Uslu ve ark., 2017).

Bizim çalışmamızda B kompleks vitaminleri uygulamaları yapılan hayvanlarda RBC ortalamalarının kontrol grubu ortalamalarından yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun gelişmesinde başta B12 vitaminin etkisinin yüksek olduğu düşünülmektedir. Nitekim, kırmızı kan hücrelerinin nihai olgunlaşması için özellikle önemli olan iki vitamin, B12 vitamini ve folik asittir. B12 vitamini ya da folik asidin eksikliği DNA'nın anormal ve azalmış olmasına ve dolayısıyla nükleer olgunlaşma ve hücre bölünmesinin başarısız olmasına neden olur (Guyton ve Hall, 2006). Fonolik folik asit eksikliğine yol açan folik asit eksikliği veya B12 vitamini eksikliği, DNA sentezi için timidin için büyük bir gereksinime sahip oldukları için hızla bölünen hücreleri etkiler. Klinik olarak, bu, kemik iliğini etkiler ve megaloblastik anemi oluşturur (Murray ve ark., 2003; Aboamer ve ark., 2015). PCV, kan hemoglobin ve serum vitamin B12, ilave vitamin B12 ile artırıldı (Girard ve Matte, 1999).

Yaptığımız çalışmada AST, SDH, ALP enzim düzeyi ortalamalarının referans sınırlar içerisinde yer almakla birlikte, kontrol grubu ortalamalarından (Tablo 4) istatistiksel bakımdan önemli derecede ($p < 0.05$) yüksek olduğu gözlenmiştir. Eskiden serum glutamik-oksaloasetik transaminaz veya SGOT olarak adlandırılan aspartat aminotransferaz (AST), enerji üretimi için gerekli olan bir enzimdir. Karaciğer ve kalp hastalıkları başta olmak üzere kasal aktivitelerde de yükselebilmektedir. Sorbitol dehidrogenaz (SDH) düzeyindeki yükselmeler ise karaciğerde parenkimal hücre hasarı olduğunun işaretidir. Enfeksiyöz hepatitler, toksik hepatitler, hipoksiye bağlı KC hasarı, siroz, primer veya sekonder karaciğer maligniteleri gibi durumlarda kan serumundaki düzeyleri artış gösterir. Alkalen fosfataz (ALP) enzimi ise, karaciğer, kemik ve börek gibi birçok dokularda bulunan bir enzimdir. Safra sistemi bozukluklarında ve tıkanmalarında da artışı söz konusu olabilmektedir (Bain, 2003; Radostits ve ark., 2008; Allison, 2012).

Mevcut çalışmada referans sınırlar içerisinde olmak şartıyla çalışma grubunda kontrol grubu ortalamalarına göre yüksek AST, SDH ve ALP enzim düzeylerinin elde edilmesinin muhtemel sebebi B kompleks vitaminlerinin karaciğer ve böbrek metabolizmasında artışa yol açmasındandır. Nitekim, B kompleks vitaminleri enerji metabolizması başta olmak üzere yağ ve protein metabolizmasını uyardığı, karbonhidrat, yağ ve protein katabolizmasını artırdığı, ayrıca B kompleks vitaminlerinden olan B12 vitaminini karaciğerde depolanabildiği ve kandaki aşırı B 12 vitamini birikiminin karaciğer ve böbrek tarafından temizlenemediği, bunun da enzimatik aktivitede artışa yol açabileceği bildirilmiştir (Virtanen, 1966). Benzer şekilde üre (UREA) ve kreatinin (CREA) düzeyi ortalamaları açısından, referans aralıkta olmakla birlikte, kontrol grubuna göre çalışma grubunda yüksek düzeylerin elde edilmesi, ruminal fauna ve böbrek metabolik faaliyetinin artışına bağlanabilir. *In vivo* deneyler, protozoon silikat karışımlarının midenin amonyak nitrit (N) akışını bağırsağa indirgediğini tespit etmiştir (Castillo-Gonzales ve ark., 2014). Protozoa içermeyen hayvanlarda amonyak akışına rağmen, nitrite dönüşmesinde azalmaya, defaunasyonun böylece kan üre düzeyinde artışa yol açabileceği bildirilmiştir (Valente ve ark., 2016). CREA konsantrasyonundaki artış ise B kompleks vitaminleri uygulamasını müteakip tubullerden protein başta olmak üzere böbreklerden geri

emilim faaliyetlerindeki artışı ve böbreğin dokusunun bundan etiklenme seviyesine işaret etmektedir (Taes ve ark., 2003).

Total protein (TP) ve ALB konsantrasyonları ortalamaları açısından çalışma grupları ortalamaları arasında istatistiki açıdan önemli farklar gözlenmezken ($p>0.05$), çalışma grubu ortalamalarının tümünün (Tablo 4) kontrol grubu ortalamasından (sırasıyla 6.15 ± 0.10 ; 2.94 ± 0.42) istatistiksel bakımdan önemli derecede ($p<0.05$) yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durumun protozoal protein üretimi artışı ile birlikte böbrek ve bağırsaklardan geri alımın artışına bağlanabileceği bildirilmiştir (Jouany ve Ushida, 1999). Nitekim, rumen protozoonlarının sindirimden çıkarılması mikrobiyal ve rasyon kaynaklı proteinin duodenumdaki miktarında artışa yol açar. Düşük besin değeri olan ve yüksek lif içeren besinler, protozoon sayısındaki artışa neden olurlar. Bazı protozoonlar ise protein üretimindeki rollerinin yanısıra, selülozik karaktere de sahiptirler. Protozoona enerji sağlayan başlıca kaynaklar nişasta ve şeker gibi karbonhidratlardır. Ana nitrojen kaynağı (N) ise, rumen ortamında bakterilerin yutulması yoluyla elde edilen bitkisel veya mikrobik proteindir. Bakteriler ise AA sentezi için amonyak kullanmazlar (Elliot, 1981; Williams, 1986; Mahesh ve ark., 2013; Castillo-González ve ark., 2014). Özellikle B12 eksikliği ileumdan absorbe edilen protein miktarında azalmaya yol açar. Yine bağırsak ve proksimal tübüler transport proteinlerindeki bozukluklar, albuminüri ile sonuçlanır ve bu olgular B12 eksikliği ile ilişkilendirilmiştir (Lesson ve Summers, 2001; Grasbeck, 2006; Storm ve ark., 2014).

B kompleks vitaminlerinden olan B-12 vitamini, karbonhidratların, proteinlerin ve yağların glikozla metabolize edilmesine yardımcı olmasının yanısıra, metabolizma, alyuvar üretimi ve sağlıklı sinir hücrelerinin korunması için gereklidir (Grasbeck, 2006). B-12 vitamini ve diğer B vitaminleri tüketilen gıdaları vücut tarafından kullanılabilen glukoza dönüştürmeye yardımcı olur. Vitamin B-12 eksikliği bu nedenle düşük glikoz düzeylerine neden olabilir (McDowell, 2000). GLU konsantrasyonu ortalamalarının ilginç bir şekilde birlikte 3. günde en düşük (4.76 ± 1.32 mg/dL) ölçüldüğü, bu düzeylerin kontrol grubu ortalamasından (6.72 ± 1.28 mg/dL) ve diğer ölçüm zamanları ortalamalarından (Tablo 4) istatistiki

açından önemli derecede düşük ($p<0.05$) olduğu, ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1 ve 7. gün ortalamalarının da (Tablo 4) istatistiksel bakımdan önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu gözlenmiştir. Bunun B kompleks vitaminlerinin glukozun yararlanımını ve katabolizmasındaki artıştan kaynaklanması muhtemeldir. Çünkü ruminantlar için birincil enerji kaynağı, glikoz veya yağ olmayan, uçucu yağ asitleri (VFA) 'dir. Glikoz veya yağ metabolizmasında vitaminlere olan ihtiyaç daha az olsa da, VFA'ların enerjiye dönüştürülmesi metabolizmasında B kompleks vitaminlerine olan ihtiyaç çok daha büyüktür (Zinn ve ark., 1987).

Rumen sıvısı açısından bakıldığında; Entodiniomorpha and Holotricha türleri en baskın türler olarak karşımıza çıkan protozoon türleridir. (Williams, 1986; Yáñez-Ruiz ve ark., 2004). Bu protozoonlardan Holotricha türleri çözünür şekerleri asimile edebilir ve bazı rezerv polisakkaridleri de tutabilirler. Bu nedenle, bu protozoonların, yüksek konsantrasyonlarda sindirilebilir şekerlerin yüksek olduğu gıdaları tükettikten sonra asidoz riskini azaltabilmektedirler (Danfar ve ark., 1995). Selülozik protozoonlar ise toplam protozoonların yaklaşık% 90'ını oluşturur ve çoğu selülozun hidrolizi ve fermantasyonunda yer alan Entodiniomorpha cinsine aittir (Yáñez-Ruiz ve ark. 2004).

Ruminal ortamda, çözünür proteinler çoğunlukla bakteriler ve protozoonlar tarafından parçalanmakla birlikte, ruminal bakterilerin proteolitik aktivitesinin, protozoonunkinden 6 ila 10 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Castillo-González ve ark., 2014).

Total bilirubin (TB) ve DB konsantrasyonları açısından Tablo 4 incelendiğinde; 3. günde en yüksek ortalamaların (sırasıyla 0.70 ± 0.02 , 0.13 ± 0.001) ölçüldüğü, bu düzeylerin kontrol grubu ortalamasından ve diğer ölçüm zamanları ortalamalarından (Tablo 4) istatistiksel bakımdan önemli derecede yüksek ($p<0.05$) olduğu, ayrıca kontrol grubu ortalaması ile karşılaştırıldığında 1 ve 7. gün ortalamalarının da (Tablo 4) istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durum karaciğer metabolik faaliyetlerinin artışının bir işareti

olarak yorumlanabilir (McSherry ve ark., 1984; Radostits ve ark., 2008). Nitekim, yapılan alışmalar TB ve DB konsantrasyonlarının karaciğer ve safra sistemi faaliyetinin artışı ile birlikte yükselebileceğini ortaya koymaktadır (Bain, 2003; Smith, 2009; Allison, 2012). Mamafih, bizim alışmamızda TB ve DB konsantarsyon düzeyleri yükselmekle birlikte, referans sınırlar içerisinde kalmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen veriler işığında; klinik olarak sağlıklı sığırlarda ekzojen olarak intramüsküler yolla verilen B kompleks vitaminlerinin patolojik sınırlarda olmasa bile, karaciğer ve böbreği zorlayabileceği, özellikle 3. gün ile birlikte buna ait belirtilerin gözlenebileceği, bazı enzimlerin ve bilirubin düzeylerinin yükselebileceği, protozoal kaynaklı protein üretiminin artışı ile birlikte böbrek ve bağırsaklardan protein alımını artırabileceği ve bunun verim üzerine olumlu etkilerinin oluşabileceği, GLU metabolizmasını artırdığı için kan GLU düzeylerinde dşye yol açabileceği, İ.M. yolla B kompleks vitaminlerinin sindirim sistemi olumsuzluklarından etkilenmeyeceği için sığırlar için kullanılmasının büyük yarar sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Parenteral Yolla Verilen B Kompleks Vitaminlerinin Sığırlarda Rumen Protozoonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Sığır, at, koyun, kedi ve köpeklerde eksikliklerinin koruma ve tedavi açısından B kompleks vitaminleri ve kobalt ek olarak kullanılmaktadır. B vitaminleri karbonhidrat, protein ve yağların metabolizmasında koenzim olarak önemli rol oynamaktadır. B kompleks vitaminlerinin eksiklikleri ruminantlarda normalde görülmezken, bu yetersizlik evsahibi hayvanın ihtiyaç duyduğu rumen mikroorganizmaların sentezlerindeki yetersizlikten kaynaklanabilir. Bu çalışma Afyonkarahisar İli ve çevresinde yetiştirilen yaşları 6-18 ay arasında değişen 30 sığırdan yapılmıştır. Klinik olarak sağlıklı 10 baş sığır kontrol grubunu oluşturmuştur. Hayvanlara parenteral yolla B kompleks vitamini intramüsküler yolla 3 gün boyunca günde 1 defa 10-20 ml verilerek, rumen protozoonları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, hayvanların tümünde rumen protozoonlarının durumu ile birlikte klinik (vücut sıcaklığı, solunum ve kalp frekansları, rumen kontraksiyonları gibi), hematolojik (total lökosit sayısı, eritrosit sayısı, hemogloblin ve hematokrit ölçümleri gibi) ve serum biyokimyasal parametrelerinin (aspartat aminotransferaz, glukoz, total protein, albümin gibi) ölçümleri yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: B Kompleks Vitaminleri, Sığır, Afyonkarahisar, Rumen, Protozoa

ABSTRACT

Investigation on Effects of Parenterally Given Vitamin B Complex on Ruminal Protozoa in Cattle

Choline is sometimes classified as a B-complex vitamin even though it does not satisfy the definition of a vitamin. As a supplemental source of B complex vitamins and complexed cobalt for use in preventing or treating deficiencies in Cattle, Horses, Sheep, Swine, Dogs and Cats. B vitamins play important roles, as a coenzyme, in the metabolism of carbohydrate, protein and fats. Although deficiencies of vitamins of the B complex are not normally found in ruminants, it is generally considered that the rumen microorganisms synthesize sufficient for the host animals requirements. This study was held on 30 cattle between 6 to 18 month of ages breeding in Afyonkarahisar province and around regions. Ten clinically healthy animals will be served as control group animals. Animals were given 10-20 ml by intramuscular route B complex vitamins one time during 3 days to investigate of effects of it on rumen protozoa. In this study, clinical (body temperature, pulse and respiration rates, rumen contractions etc.), hematological (total leucocyte count, erythrocyte count, hemoglobin and hematocrit measurements etc.) and serum biochemical parameters (aspartate aminotransferase, glucose, total protein, albumin etc.) along with status of rumen protozoa were measured in all the animals.

Keywords: B Complex Vitamins, Cattle, Afyonkarahisar, Rumen, Protozoa

KAYNAKLAR

- ABEL, H., SCHRÖDER, B., LEBZIENAND, P., FLACHOWSKY, G. (2006). Effects of defaunation on fermentation characteristics and biotin balance in an artificial rumen-simulation system (RUSITEC) receiving diets with different amounts and types of cereal. *British Journal of Nutrition*, **95**:99–104.
- ABOAMER, A.A., EL-SAYED, H.M., ABO EL-NOR, S.A.H., KHORSHED, M.M., KHOLIF, A.M., SALEH, H.M., KHATTAB, I.M., KHATTAB, M.S.A. (2015). Synchronous least-cost ration formulation for lactating barki ewes using nonlinear programming, *Journal of Animal Production Advances*, 5 (8): 733-746.
- AIELLO, S.E. (2016). Merck Veterinary Manuel. 11 Ed. *Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA*
- AKINS, M.S., BERTICS, S.J., SOCHA, M.T., SHAVER, R.D. (2013). Effects of cobalt supplementation and vitamin B12 injections on lactation performance and metabolism of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **96**: 1755–1768.
- ALLISON, R.W. (2012). Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M.A., WEISER, G., ALLISON, R.W., CAMPBELL, T.W., Editors. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 2nd ed. Ames, IA, USA: Wiley-Blackwell Inc.; pp. 401–424.
- ALTINTAŞ, A., FIDANCI, UR. (1993). Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal degerleri. *A. V. Vet. Fak. Derg.*, **40 (2)**: 173-186.
- ATKIN, D., AMOS, H. (1979). Mode of attack on Orchard grass leaf blades by rumen protozoa. *Applied Environmental Microbiology*, **37**:332-338.
- ATKINS, K.B., ERDMAN, R.A., VANDERSALL, J.H. (1988). Dietary choline effects on milk yield and duodenal choline flow in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **71**:109-117.
- BAIN, P.J. (2003). Liver. In: LATIMER, K.S., MAHAFFEY, E.A., PRASSE, K.W., editors. *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4th ed. Ames, IA, USA: Iowa State Press, pp. 193–214.
- BENDER, D.A. (1999). Optimum nutrition: thiamin, biotin and pantothenate. *Proc Nutr Soc.*, **58(2)**:427-33.

- BOYNE, A. W., EADIE, J. M. & RAITT, K. (1957). The development and testing of a method of counting rumen ciliate protozoa. *J. Gen. Microbiol.* **17**: 414-421.
- BUCHOLZ, H., BERGEN, W. (1973). Microbial phospholipid synthesis as a marker for microbial protein synthesis in the rumen, *Applied Microbiology*. **25**:504-513.
- CASTILLO-GONZALEZ, A.R., BURROLA-BARRAZA, M.E., DOMINGUEZ-VIVEROS, J., CHAVEZMARTINEZ, A. (2014). Rumen microorganisms and fermentation. *Arch. Med Vet.* **46**:349–361.
- COLE, N. A., MCLAREN, J.B., HUTCHESON, D.P. (1982). Influence of preweaning and B-vitamin supplementation of the feedlot receiving diet on calves subjected to marketing and transit stress. *J. Anim. Sci.*, **54**:911-919.
- COLEMAN, G. (1980). Rumen Ciliate Protozoa. *Advanced Parasitology*, **18**:121-173.
- COLEMAN, S. (1975). The inter-relationships between rumen ciliate protozoa and bacteria, pp.149-164. In McDonald, I., Warner, A (ed), *Digestion and metabolism in ruminants*. University of New England Publishing Unit, Armidale, Australia.
- DANFAR, A., TETENS, V., AGERGAARD, N. (1995). Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry and Molecular Biology*, **111**: 201–210.
- DE MEYER, D., HENDERSON, C., PRINS R. (1978). Relative significance of exogenous and de novo synthesized fatty acids in the formation of rumen microbial lipids *in vitro*. *Applied Environmental Microbiology*, **35**:24-31.
- DE MEYER, D. (1981). Rumen Microbes and digestion of plant cell walls. *Agriculture and Environment*, **6**:295-337.
- DONG, F.M., AND S.M. OACE. (1975). Folate concentration and pattern in ovine milk. *J. Agric. Food Chem.*, **23**:534.
- DUBESKI, P.L. OWENS FN., SONG, W.O., COBURN, S.P., MAHUREN, J.D. (1996). Effects of B vitamin injections on plasma B vitamin concentrations of feed-restricted beef calves infected with bovine herpesvirus-1. *J. Anim. Sci.*, **74**:1358-1366.
- ELİTOK, B., ELİTOK, Ö.M., AKGÜN, S. (2016). B Vitaminleri Yetmezliği. *J. Vet. Sci. Intern. Med.*, **2 (2)**: 51-55.

- ELLIOT, J.M. (1981). Propionate metabolism and vitamin B12. In: Ruckebusch, Y., Thivend, P. (Ed.) *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. MTP Press Ltd, Lancaster, England. PP: 485-503.
- ELMADFA, I., D. MAJCHRZAK, P. RUST AND D. GENSER. (2001). The thiamine status of adult humans depends on carbohydrate intake. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **71**(4):271-321.
- EMMANUEL, B. (1974). On the origin of rumen protozoan fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 337:404-413.
- ERICKSON, P.S., MURPHY, M.R., MCSWEENEY, C.S. TRUSK, A.M.(1991). Niacin absorption from the Rumen. *J. Dairy Sci.*, **74**:3492.
- FILEDER, S.E. (2016). Hematologic Reference Ranges. In: Merck Veterinary Manuel. AIELLO, S.E., 11 Ed. *Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA*.
- FRIESECKE, H. (1980). Vitamin B12. No. 1728. F. Hoffmann-La Roche & Co. Ltd., Basel, Switzerland.
- GAROSI, L.S., DENNIS, R., PLATT, S.R., CORLETTO, F., DE LAHUNTA, A., JAKOBS, C. (2003). Thiamine deficiency in a dog: clinical, clinicopathologic, and magnetic resonance imaging finding. *J. Vet. Intern. Med.*, **17**: 719-723.
- GIBSON, G.E., ZHANG, H. (2002). Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. *Neurochem Int.*, **40**:493-504.
- GIBSON, G.E., ZHANG, H. (2002). Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. *Neurochem Int.*, **40**: 493-504.
- GIRARD, C.L. (1998). B-complex vitamins for dairy cows: A new approach. *Can. J. Anim. Sci.*, **78**:71-82.
- GIRARD, C.L., CHIQUETTE, J., MATTE, J.J. (1994). Concentrations of folates in ruminal content of steers: responses to a dietary supplement of folic acid in relation with the nature of the diet. *J. Anim. Sci.*, **72**: 1023-1028.
- GIRARD, C.L., MATTE, J.J., TREMBLAY, G.F.. (1995). Gestation and lactation of dairy cows: a role for folic acid?. *J. Dairy Sci.*, **78**:404-411.
- GIRARD, C.L., MATTE, J.J. (1999). Changes in serum concentrations of folates, pyridoxal, pyridoxal-5-phosphate and vitamin B12 during lactation of dairy cows fed dietary supplements of folic acid. *Canadian Journal of Animal Science*, **79**: 107–113.

- GIRARD, V., HAWKE J. (1978). The role of holotrichs in the metabolism of dietary linoleic acids in the rumen. *Biochim. Biophys. Acta.*, **528**: 17-27.
- GRASBECK, R. (2006). Imerslund-Grasbeck syndrome (selective vitamin B(12) malabsorption with proteinuria). *Orphanet J Rare Dis.*, 1: 17-26..
- GUYTON, A.C., HALL, J.E. (2006). *Textbook of Medical Physiology*. 11th ed, Philadelphia, Pennsylvania. p.1248.
- HALPIN, C.G., HARRIS, D.J., CAPLE, I.W., PETTERSON, D.S. (1984). Contribution of cobalamin analogues to plasma vitamin B12 concentrations in cattle. *Res Vet Sci.*, **37(2)**: 249-51.
- HARMEYER, J., KOLLENKIRCHEN, U. (1989). Thiamin and niacin in ruminant nutrition. *Nutrition Research Reviews*, **2**: 201-225.
- HOPPER, J.H., JOHNSON, B.C.. (1955). The production and study of an acute nicotinic acid deficiency in the calf. *J. Nutr.*, **56**: 303-312.
- HUNGATE, R.E. (1966). *The rumen and its microbes*. Academic Press Inc., New York.
- İMREN, H.Y. (1997). *Veteriner İç Hastalıklarına Giriş*. Genişletilmiş 2. Baskı. Medisan Yayınevi, Ankara.
- JOHNSON, B.C., NEUMAN, A.L., NESHEIM, R.O. JAMES, M.F., KRIDER, J.L., DANA, A.S., THIERSCH, J.B. (1950). The interrelationship of vitamin B12 and folic acid in the baby pig. *J. Lab. Clin. Med.*, **36**: 537-546.
- JOUANY, J. P., USHIDA. K. (1999). The Role of Protozoa in Feed Digestion - Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **12(1)**: 113-128.
- KANDYLIS, K. (1984). Toxicology of sulfur in ruminants: review. *J. Dairy Sci.*, **67**: 2179-2187.
- KEENEY, M. (1970). Lipid metabolism in the rumen. In: PHILLIPSON, A., ANNISON, E., ARMSTRONG, D., BALCH, C., COMLINE, R., HARDY, R., HOBSON, P., KEYNES, R. (ed.), *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Oriel Press, Newcastle-upon- Tyne, England. pp. 489-504.
- KENNEDY, D.G., YOUNG, P.B., KENNEDY, S., SCOTT, J.M., MOLLOY, A.M., WEIR D.G., PRICE J. (1995). Cobalt-vitamin B12 deficiency and the activity of methylmalonyl CoA mutase and methionine synthase in cattle. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **65**: 241-247.

- KIM, Y., MILLER, J.W., DA COSTA, K., NADEAU, M., SMITH, D., SELHUB, J., ZEISEL, S.H., MASON, J.B. (1994). Severe folate deficiency causes secondary depletion of choline and phosphocholine in rat liver. *J. Nutr.*, **124**:2197-2204.
- LARDINOIS, C.C., MILLS, R.C., ELVEHJEM, C.A., HART, E.B. (1944). Rumen synthesis of the vitamin B complex as influenced by ration composition. *J. Dairy Sci.*, **27**:579-588.
- LATTEUR, J.P. (1962). Cobalt Deficiencies and Subdeficiencies in Ruminants” Center d’Information du Cobalt, Brussels, Belgium.
- LEE, R.W., STUART, R.L., PERRYMAN, K.R., RIDENOUR, K.W. (1985). Effect of vitamin supplementation on the performance of stressed beef calves. *J. Anim. Sci.*, **63**: 425-436.
- LEKLEM, J.E. (1991). Vitamin B6. In: Handbook of Vitamins (MACHLIN, L.J. ed, Marcel Dekker, Inc., New York., pp. 341-365.
- LESSON, S., SUMMERS, J.D. (2001). Scott,s Nutrition of the Chicken. 4th ed. Canada.
- LETENDRE, M., GIRARD, C., MATTE, J.J., BERNIER, J.F. (1991). Effect of intramuscular injections of folic acid on folates status and growth of weanling pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, **71**: 1223-1231.
- LIN, Y., WU, J. SHIAU, S. (2010). Dietary cobalt can promote gastrointestinal bacterial production of vitamin B-12 in sufficient amounts to supply growth requirements of grouper, epinephelus malabaricus. *Aquaculture*, **302**: 89-93.
- LOBLEY, G.E. (1992). Control of metabolic fate of amino acids in ruminants: A review. *Journal of Animal Science*, **70**: 3264–3275.
- LOBLEY, G.E., CONNELL, A., REVELL, D. (1996). The importance of transmethylation reactions to methionine metabolism in sheep: effects of supplementation with creatine and choline. *Br. J. Nutr.*, **75**: 47-56.
- LUCE, W.G., BUCHANAN, D.S., MAXWELL, C.V., JORDAN, H.E., BATES, R.O. (1985). Effect of supplemental choline and dichlorvos on reproductive performance of gilts. *Nutr. Rep. Int.*, **32**: 245-253.
- MAHESH, M.S., MOHINI, M., KUMAR, D., SHEEL, R., SAWANT, S.P. AND JHA, P. (2013). Influence of biologically treated wheat straw diet on in vitro rumen fermentation, methanogenesis and digestibility. *Scientific Journal of Animal Science*, **2(6)**: 173-179.

- MCDOWELL, L.R. (2000). Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to Human Nutrition. Academic Press, San Diego, California.
- MCKENZIE, R.A., CARMICHAEL, A.M., SCHIBROWSKI, M.L., DULGAN, S.A., GIBSON, J.A., TAYLOR, J.D. (2009). Sulfur-associated polioencephalomalacia in cattle grazing plants in the family Brassicaceae. *Aust. Vet. J.*, **87**(1): 27-32.
- MCSHERRY, B.J., LUMSDEN, J.H., VALLI, V.E., BAIRD, J. D. (1984). Hyperbilirubinemia in sick cattle. *Can J Comp Med.*, **48**(3): 237–240.
- MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., RODWELL, V.W. (2003). Harper's Illustrated Biochemistry. 26th ed, United States of America.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). (1989). Nutrient Requirements of Domestic Animals: Nutrient Requirements of Dairy Cattle (Sixth Rev. Ed.). National Academy of Sciences-National Research Council, Washington, D.C., USA.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). (2005). Mineral Tolerance of Animals (2nd rev. ed.) National Academy of Sciences-national Research Council, Washington, D.C., USA.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). (1987). Vitamin Tolerance of Animals. National Academy of Sciences-National Research Council, Washington, D.C., USA.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). (2001). Nutrient Requirements of Domestic Animals: Nutrient Requirements of Dairy Cattle (7th Rev. Ed.) National Academy of Sciences-national Research Council, Washington, D.C., USA.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL).(2007). Nutrients Requirements of Small Ruminants, Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academy of Sciences-National Research Council, Washington, D.C., USA.
- ORPIN, C. (1983). The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **10**: 121-143.
- ORPIN, C., Letcher, A. (1978). Some factors controlling the attachment of the rumen holotrich protozoa *Isotricha intestinalis* and *I. prostoma* to plant particles in vitro. *J. Gen. Microbiol.*, **106**: 33-40
- OSAME, S., ARAKI, S., KIMURA, M. (1995). Effects of vitamin B2 on neutrophil functions in cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, **57**: 493-495.

- PREYNAT, A., LAPIERRE, H., GIRARD, C.L. (2009). Influence of methionine supply on the response of actational performance of dairy cows to supplementary folic acid and vitamin B12. *Journal of Dairy Science*, **92**: 1685–1695.
- PURSER, B., KLOPFENSTEIN, T., CLINE, J. (1965). Influence of tylosine and aureomycin upon rumen metabolism and the microbial population. *Journal of Animal Science*, **24**: 1039-1044
- RADOSTITS, O.M., BELL, J.M. (1970). Nutrition of the preruminant dairy calf with special reference to the digestion and absorption of nutrients: A review. *Can. J. Anim. Sci.*, **50**: 405-411.
- RADOSTITS, O.M., GAY, C.C., HINCHCLIFF, K.W., CONSTABLE, P.D. (2008). *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Goats, Pigs and Horses*. 10th ed. Edinburgh, Saunders Elsevier, UK.
- ROHLFS, E.M., GARNER, S.C., MAR, M., ZEISEL, S.H. (1993). Glycerophosphocholine and phosphocholine are the major choline metabolites in rat milk. *J. Nutr.*, **123**: 1762-1773.
- RUHUL, A.M., ONODERA, R.. (1998). Effects of salinomycin and vitamin B6 on *in vitro* metabolism of phenylalanine and its related compounds by ruminal bacteria, protozoa and their mixture. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **44**: 1-9.
- SAFARKHANLOU, M., MAHERI-SIS, N.E., NOBAR, R.S. (2016). The Effects of Intramuscular Injections of Vitamin B12 on Production Performance of Dairy Cows in Early Lactation Fed Dietary Supplements of Rumen-Protected Methionine. *J. Biol. Environ. Sci.*, **10(28)**: 11-19.
- SANTSCHI, D. (2004). Rate of B-complex vitamins in the gastrointestinal tract of dairy cows. Doctorate Thesis. McGill University Montreal, Quebec, Canada.
- SANTSCHI, D.E., BERTHIAUME, R., MATTE, J.J., MUSTAFA, A.F., GIRARD, C.L. (2005). Fate of Supplementary B-Vitamins in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, **88(6)**: 2043-2054.
- SCOTT, M.L., NESHEIM, M.C., YOUNG, R..J. (1982). *Young nutrition of the chicken*. Scott & Associates, Ithaca, New York.
- SCOTT, R., YARLETT, N., HILLMAN, K., WILLIAMS, T., WILLIAMS, A., LLOYD, D. (1983). The presence of oxygen in rumen liquor and its effects on methanogenesis. *Journal of Applied Bacteriology*, **55**: 143-149.

- SILZELL, S.A., HELLWIG, D.H., KEGLEY, E.B., COFFEY, K.P., BEERS, K., DANIELS, L.B. (2002). Effects of Supplemental Thiamin on Growth Performance and Immune Function in Stressed Stocker Cattle. *J. Appl. Anim. Res.*, **22**: 145-156.
- SMITH BP. (2009). Large Animal Internal Medicine. 4th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO, USA.
- SMITH, R.M., MARSTON, H.R. (1970). Production, absorption, distribution and excretion of vitamin B12 in sheep. *British Journal of Nutrition*, **24**: 857-877.
- STORM, T., EMMA, F., VERROUST, P.J., HERTZ, J.M., NIELSEN, R., CHRISTENSEN, E.I. (2011). A patient with cubilin deficiency. *N Engl J Med*. 2011;364:89–91. SWINGLE, R.S., I.A. DYER. (1970). Effects of choline on rumen microbial metabolism. *J. Anim. Sci.* 31:404.
- TAES, Y.E., DELANGHE, J.R., DE VRIESE, A.S., ROMBAUT, R., VAN CAMP, J., LAMEIRE N.H. (2003). Creatine supplementation decreases homocysteine in an animal model of uremia. *Kidney Int.*, **64(4)**: 1331-7.
- USLU, U., BALEVİ, T., UÇAN, U.S., CEYLAN, O., USLU, A. (2017). Effect of Parenteral Administration of Vitamin B to Goats on Performance, Lice (Phthiraptera) Infestations and Cellular Immunity. *Kafkas Univ. Vet. Fak Derg.*, **23 (5)**: 715-720.
- VALENTE, T.N.P., DA SILVA LIMA, E., DOS SANTOS, W.B.R., CESARIO, A.E.S., TAVARES, C.A.J., DE FREITAS, M.A.M. (2016). Ruminal microorganism consideration and protein used in the metabolism of the ruminants: A Review, *African Journal of Microbiology Research*, **10(14)**: 456–464.
- VIRTANEN, A.I. (1966). Milk production of cows on protein free feed. Studies of the use of urea and ammonium salts as the sole nitrogen source. *Science*, **153**: 1603-1614.
- WEBER, M.F., VERHOEFF, J., HOLZHAUER, M., BARTELS, C.J., VAN WUIJCKHUISE, L., VELLEMA, P. (2011). Vitamin B12 supplementation and milk production on farms with 'chronic wasting' cattle. *Tijdschr Diergeneeskd.*, **126(6)**: 218-23.
- WELLER, R., PILGRIM, A. (1974). Passage of protozoa and volatile fatty acids from the rumen of a sheep and from a continuous in vitro fermentation system. *British Journal of Nutrition*, **32**: 341-351.

WILLIAMS, A.G. (1986). Holotrich Ciliate Protozoa. *American Society for Microbiology*, **50**: 25-49.

YÁÑEZ-RUIZ, D.R., MOUMEN, A., MARTIN GARCIA, A.I., MOLINA ALCAIDE, E. (2004). Ruminant fermentation and degradation patterns, protozoa population, and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two-stage olive cake: Effect of PEG supply. *J. Anim. Sci.*, **82**: 2023-2032.

ZEISEL, S.H. (1990). Choline deficiency. *J. Nutr. Biochem.* 1: 332.-341

ZINN, R.A., OWENS, F.N., STUART, R.L., DUNBAR, J.R., NORMAN, B.B. (1987). B-vitamin supplementation of diets for feedlot calves. *J. Anim. Sci.*, **65**: 267-277.

ÖZGEÇMİŞ

Vet. Hekim Seda AKGÜN 1990 yılında Afyonkarahisar İli'nde doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Afyonkarahisar'da tamamladı. 2009-2010 eğitim-öğretim yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Lisans Programı'nda eğitimine başladı ve 2014 yılında mezun oldu. 2014-2015 eğitim-öğretim yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.

2014 yılında Afyonkarahisar Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü'nde Yetkilendirilmiş Veteriner Hekim olarak göreve başladı. 2016 yılında il müdürlüğünde ki işinden ayrıldı. 2017 yılında Şuhut Zafer Hayvancılık ve Gıda San. Tic. Ltd. Şti. de veteriner hekim olarak göreve başladı ve halen görev yapmaktadır.