

BUZAĞI BESLEMEDE PROBİYOTİKLERİN KULLANIMI (DERLEME)
(The use of Probiotics in Calf Nutrition) (A Review)

Ender BURÇAK¹

Sakine YALÇIN²

¹ Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara.

Geliş Tarihi: 09.07.2013

Kabul Tarihi: 09.09.2013

ÖZET

Probiyotikler; bakteri, mantar ve/veya mayalardan oluşmuş canlı mikroorganizmalardır. Yeterli miktarda alındıklarında beslenme ile ilgili yaygın olarak bilinen yararları yanında bağırsak mikrobiyal dengesini geliştirerek sağlık üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Hayvansal üretimde probiyotiklerin kullanılması antibiyotik tedavilerinin neden olduğu problemleri azaltabileceği gibi büyümeyi teşvik eder ve yetersiz uygulamalardan oluşan sorunları azaltır. Bu derlemede buzağı beslemede probiyotik kullanımının performans ve sağlık üzerine etkilerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Buzağı, probiyotik, antibiyotik, diare, besleme

SUMMARY

Probiotics are alive microorganisms consisting of bacteria, fungi with or without yeasts. They have beneficial effects improving intestinal balance beyond the nutritional ones commonly known. When ingested alive in sufficient amount. The use of probiotics in animal production may reduce-problems caused by antibiotic therapy, promotes growth and reduces problems occurred from inadequate management. The aim of this paper was to evaluate the effects of the usage of probiotics in calf nutrition on performance and health.

Key words: Calf, probiotic, antibiotic, diarrhea, nutrition

GİRİŐ

Süt ineği işletmelerinde en büyük yetiştiricilik problemi yeni doğan buzağılarda ishallere bağlı gerçekteşen yüksek ölüm oranlarıdır. Buzağıların doğumlarından itibaren süttten kesime kadar geçen süre ishal vakalarının en sık görüldüğü ve çoğu infeksiyöz etkene en duyarlı oldukları dönemdir. Bu dönem içerisinde buzağı süt ikame yemi veya başlangıç yemlerine antibiyotik gibi terapötik ajanların ilavesi buzağılarda ishallerden kaynaklanan hastalıkların insidensi ve ölüm oranlarında

azalmalara yol açmaktadır (13). Ancak, antibiyotiklerin dünya çapında ve uzun süre terapötik ajan ve büyütme faktörü olarak kullanımı sonucunda dirençli bakteri popülasyonlarında artışlara yol açması yanında oral kullanımlarını takiben bağırsak bozukluklarına yol açması gibi nedenlerle antibiyotiklere karşı artan baskılar, yetiştirici ve yem sanayicilerini antibiyotiklerin yerine güvenle kullanılabilir yeni kaynaklar aramaya itmiştir (14).

Antibiyotiklerin büyütme faktörü olarak kullanılmasına Avrupa Birliği'nde 1 Haziran

1999 tarihinde sınırlama getirilmiştir. Bu sebeple, antibiyotikler dışında yeni güvenli alternatif katkıların bulunması zorunlu hale gelmiştir. Türkiye’de de 1999 yılından itibaren antibiyotiklerin hayvan yemlerinde büyütme faktörü olarak kullanılması yasaklanmıştır (25).

Bu amaçla, yem katkı maddesi olarak probiyotiklerin kullanımı giderek artmaya başlamıştır. Probiyotik mikroorganizmalar hayvanlarda sindirim sistemi ile ilgili bazı hastalıkların korunma ve tedavisinde kullanılmaktadır. Doğal olmaları, hayvana herhangi bir zarar vermemeleri ve sindirim kanalından emilmemeleri; bu konuda antibiyotiklere alternatif olmalarını sağlayan özellikleridir (42).

Bu derlemede buzağı beslemede probiyotik kullanımının performans ve sağlık üzerine olan etkilerine değinilecektir.

Probiyotikler

Probiyotik kelimesinin anlamı Yunanca “pro- (in favour-lehine)” ve “biotic-(life)” yani “yaşam yararına” kelimesinden gelmektedir (12).

Probiyotiklere insanoğlunun ilgisi yeni olmayıp, yirminci yüzyılın başlarında bazı bakterilerin sağlık için faydalı olabileceğine dair düşünceler bulunmaktaydı. Bu konuda Nobel ödüllü Rus araştırmacı Elie Metchnikoff, yoğurt içerisinde yer alan bakterilerin faydalı etkilerini bilimsel bir gerekçe olarak sunmuştur. 1907 yılında yayımlanmış olan “yaşamın uzaması” adlı kitabında, fermente edilmiş süt ürünlerinde bulunan *Lactobacillus bulgaricus* ve

Streptococcus thermophilus bakterilerinin tüketilmesinin sağlığın sürdürülmesinde önemli rol oynadığını öne sürmüştür. Ayrıca Bulgaristan’daki köylülerin uzun yaşamalarını *Lactobacillus* türlerini içeren yoğurtların tüketimine bağlamıştır (38).

Hayvan beslemede kullanılan yararlı mikroorganizmalar probiyotik veya canlı mikrobiyel ürünler (DFM, direct-fed microbials) terimleri ile tanımlanmış olup, bu iki terim zamanla birbirleri yerine alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), DFM’leri “mikroorganizmalardan oluşan canlı doğal kaynaklar” olarak tanımlamış ve üreticilerden bu terimi kullanmalarını talep etmiştir. Bu tanımlama probiyotikleri bakteri, maya ve mantarlar olmak üzere üç kategoride değerlendirmektedir (27).

Probiyotik kelimesinin açıklamaları ve tanımları zaman içerisinde değişim göstermiştir. Bu durum Tablo1’de gösterilmektedir (41).

Probiyotik mikroorganizmalarla ilgili olarak ruminantlarda yapılan çalışmalarda etkinliği belirlenmiş belli türler üzerinde yoğunlaşmıştır. Avrupa Birliğine üye ülkelerde hayvan beslemede probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar başlıca *Lactobacillus*, *Bacteriodes*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacillus* ve *Bifidobacterium spp.* gibi Gram (+) bakteri suşları, *Aspergillus spp.* mantarları ile *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces* mayalarıdır (4).

Tablo 1. Probiyotik kavramının yıllara göre açıklamaları

Tarih	Araştırmacılar	Probiyotik kavramının açıklamaları
1953	Kollath	Probiyotikler vitaminler, aromatik maddeler, enzimler gibi sebzelere yaygın olarak bulunmaktadır.
1954	Vergin	Probiyotikler antibiyotiklerin zıttıdır.
1955	Kolb	Antibiyotiklerin zararlı etkileri probiyotiklerle terapi yoluyla önlenir.
1965	Lilly ve Stillwell	Bir mikroorganizma tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmaların çoğalmasını uyaran bir maddedir.
1971	Sperti	Mikroorganizmaların üremesini destekleyen doku ekstraktlarıdır.
1973	Fujii ve Cook	Konakçı içinde enfeksiyonlara direnç oluşturan ancak in vitro ortamda mikroorganizmaların çoğalmalarını engellemeyen bileşiklerdir.
1974	Parker	Barsakta mikrobiyal dengenin oluşmasına katkıda bulunan mikroorganizmalar ve onların ürettiği maddelerdir.
1989	Fuller	Barsaklardaki mikrobiyal dengeyi geliştirerek hayvan sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikrobiyal yem katkılarıdır.
1992	Havenaar ve ark.	Hayvan ve insana verildiğinde endojen mikrofloranın özelliklerini olumlu yönde etkileyen tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürleridir.
1993	Montes ve Pugh	Konsantre canlı laktik asit bakterileridir (Lactobacillus, Streptococcus).
1996	Salminen	Konakçının sağlığını ve beslenmesini olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizma içeren maddeler ve süt ürünleridir.
1996	Schaafsma	Belirli sayıda tüketildiklerinde özgün temel beslenmenin ötesinde sağlık üzerine faydalı etkileri olan canlı mikroorganizmalardır.
1999	Salminen ve ark.	Konakçının sağlığı ve refahı üzerine yararlı etkileri olan mikroorganizmalar veya mikrobiyal hücre bileşenleridir.
2001	Schrezenmeir ve de Vrese	Konakçıda mikroflorayı değiştiren ve konakçıya yararlı etkileri olan yeterli sayıda tanımlanmış canlı mikroorganizmalar veya canlı mikroorganizmaları içeren ürünlerdir.
2002	FAO/WHO	Yeterli miktarda tüketildiklerinde konakçının sağlığına yararlı olan canlı mikroorganizmalardır.
2002	Heyman ve Ménard	Barsak mikrobiyal dengesini geliştirerek konakçıya yararlı etkileri olan canlı mikrobiyal yem katkılarıdır.
2006	Anadon ve ark.	Yeterli miktarda alındıklarında beslenme ile ilgili yaygın olarak bilinen yararları yanında sağlık üzerine olumlu etkileri olan bakterilerin yanında ayrıca mayaların da bulunduğu canlı mikroorganizmalardır.

Ruminantlarda probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar 1) *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* gibi laktik asit üreten bakteriler (LAB), 2) *Megasphaera*,

Propionibacterium gibi laktik asit kullanan bakteriler (LUB), 3) *Bacillus*, *Prevotella*, *Aspergillus* gibi diğer mikroorganizmalar olarak da sınıflandırılmaktadır (23).

Probiyotik üretiminde en çok kullanılan mikroorganizmalar *Lactobacillus* ve *Streptococcuslar*'dır. Probiyotik olarak kabul edilmesine rağmen *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* normalde barsakta bulunmayıp, yoğurt yapımında kullanılmaktadır. *Bacillus subtilis* ise aerob olduğunda barsakta çoğalamayan probiyotik mikroorganizmadır (30).

Ayrıca ekmek mayası veya bira mayası olarak bilinen, *Saccharomyces cerevisiae* gibi maya kültürleri mikrobiyal katkı olarak ruminant beslemede rasyonlara ilave edilmek suretiyle yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bu konuda çeşitli *Saccharomyces cerevisiae* içeren probiyotik ürünler ile yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda yeni doğan buzağılarda karbonhidratların sindirimi ve rumen gelişimi üzerine önemli etkilerinin olduğu gösterilmiştir (8).

Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranılan Özellikler

Probiyotik mikroorganizmaların olumlu etkilerini gösterebilmeleri için sahip olmaları gereken bazı özellikler vardır. Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların seçim kriterleri şu şekilde sıralanabilir (3):

- Güvenilir olmalı,
- Detaylı tanımlandırma ve tiplendirme yapılabilirliği,
- Klinik olarak sağlık üzerine faydalı etkileri ispatlanmış olmalı,
- Patojenik özellikleri bulunmamalı (enterotoksin ve sitotoksin üretimi,

antibiyotiklere dirençli genlere sahip olma gibi)

- Verildiği hayvanın normal barsak florasına adapte olmalı ve buradan izole edilmiş olmalı,
- Non-patojen ve canlı olmalı, istenilen konsantrasyonda bulunmalı,
- Mide asidine, safraya ve lizozim enzimlerine karşı dayanıklı olmalı,
- Barsaklarda canlılığını koruyarak burada kolonize olmaya yetenekli bulunmalı ve hızlı bir şekilde aktive olarak yüksek çoğalma oranı gösterebilmeli,
- Yem üretim teknolojisi işlemleri sırasında ve depolamada canlılıklarını koruyabilmeli,
- Yem içindeki besin maddeleri ve diğer yem katkı maddeleri ile karşılaştığında yüksek stabilite özelliği bulunmalı,
- Yeme katılmadan veya yeme katıldıktan sonra oda sıcaklığında stabilite özelliğini sürdürebilmelidir.

Probiyotiklerin Etki Mekanizması

Konakçının gastrointestinal sistemindeki patojenik bakterilerin çoğalmasını önlemek veya sınırlandırmak suretiyle sağlık üzerine yararlı etkileri olan canlı probiyotiklerin etki mekanizmaları hakkında çok sayıda görüş bulunmakta olup, günümüzde tam olarak bir etki mekanizmasından bahsedilmemektedir. Ancak bu konuda birkaç faktörün rol oynayabileceği hakkında görüşler ön plana çıkmaktadır (15).

Guillot (19), probiyotiklerin etkisini iki ana mekanizma ile açıklamıştır.

a- Toksik maddelerin üretimiyle ilgili metabolik reaksiyonların azaltılması, doğal enzimlerin stimüle edilmesi ve vitaminler ile antimikrobiyal maddelerin üretimiyle karakterize *besleyici etkileri*;

b- Kolonizasyon direncinde artış, barsak yüzeyine yapışma rekabeti, immun yanıtın stimüle edilmesi gibi *sağlık etkileri*;

Probiyotiklerin bu son etkisi “barsak mikroflorasında biyo-regulatör” olarak çalışmaları ve konakçının doğal savunma mekanizmasını güçlendirmeleriyle ilişkilidir. Bu nedenle, probiyotikler intestinal bariyeri güçlendirerek ve direkt olarak immun yanıtı uyularak patojen etkenlere karşı direncin artırılmasında barsak mukozasında önemli bir rol oynarlar (19).

Bunun dışında ruminantların sağlığı ve beslenmeleri açısından probiyotik bakterilerin 3 tür etki mekanizmalarının olduğu düşünülmektedir. Bunlar; 1- Rumen ekosisteminin optimizasyonu (priming), 2- Rekabetçi baskılama (competitive inhibition) 3- Rekabetçi dışlama (competitive exclusion) dır (28).

1. Rumen Ekosisteminin Optimizasyonu (priming):

Laktat rumen pH'sının düzenlenmesinde en önemli faktörlerden birisidir. Laktatın rumende fazla miktarda bulunması rumen pH'sının düşmesine neden olmakta, sonrasında rumen fonksiyonları ve bakteriyel flora olumsuz etkilenerek klinik asidoz

şekillenmektedir. Dolayısıyla, ileriki dönemlerde yüksek konsantre yem tüketmeye başlayacak olan buzağılarda önemli bir problem olacak ruminal ve olası sistemik asidozla mücadele edebilmek amacıyla laktatın kullanımını artıran veya üretimini azaltan mikroorganizmaların buzağı rasyonlarına ilave edilmesi rumen üzerinde olumlu etkiler sağlayacaktır. Bu olaylar bazı araştırmacılar tarafından rumen ekosisteminin optimizasyonu “priming” olarak da ifade edilmektedir (33).

2. Rekabetçi baskılama (competitive inhibition):

Rekabetçi baskılama, bir organizmanın yaşam süreci içerisinde rakip bir organizmanın gelişimini baskılayacak ürünler üretmesi yoluyla meydana gelmektedir. Chateau ve ark. (10), laktik asit üreten bakterilerin organizma için faydalı olmayan bakteri türleri üzerine toksik etki yapabilecek bazı bileşikler ürettiklerini ifade etmektedir. Laktik asit üreten probiyotik mikroorganizmalar; acidolin, lactocidin, acidophilin, nisin ve diplococcin gibi antibiyotik etkili maddeler ve başta laktik asit olmak üzere, asetik asit ve formik asit gibi organik asitler ve hidrojen peroksit üreterek zararlı birçok mikroorganizmanın gelişimini durdurmaktadırlar. Probiyotik mikroorganizmalar ayrıca amonyak, indol, skatol, merkaptan, toksik aminler ve sülfidler gibi toksik maddeler üreten mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek toksik amin ve amonyak artışına engel olurlar (40).

3. Rekabetçi Dışlama (competitive exclusion):

Rekabetçi dışlama, *Escherichia coli* ve *Salmonella*'nın neden olduğu barsak hastalıklarının önlenmesinde önemli bir yoldur (15). Probiyotik mikroorganizmalar barsak duvarındaki yapışma noktalarına patojen mikroorganizmalardan daha önce bağlanarak bunların sindirim sisteminde tutunmalarını engellerler. Böylelikle, barsaktaki mikroflora dengesini yeniden düzenleyerek etkilerini gösterirler. *Lactobacillerin* barsak içerisinde diğer bakteri türleri ile karbon, azot ve mineraller gibi besin maddeleri için başarılı bir şekilde rekabete girdikleri ve patojen bakterilerle barsak duvarındaki spesifik reseptörlere bağlanmak için yarış içerisinde oldukları belirtilmiştir (31).

Avrupa Birliği ve Türkiye’de Yemlerde Probiyotik Kullanımının Tarihi ve Yasal Dayanağı

1997 yılında Avrupa’da hayvancılık işletmeleri beşeri hekimlikten sonra ikinci en büyük antibiyotik tüketicisi konumundaydı. Bu tüketimin yaklaşık 1/3’ü yem katkısı olarak geri kalanı ise tedavi amaçlı kullanılmaktaydı. Öncelikle 1997 yılında avoparcin’in hayvanlarda kullanımı, akabinde 1999 yılında dört antibiyotik (bacitracin, spiramycin, tylosin ve virginiamycin) türevinin yem katkısı olarak kullanımının Hayvan Besleme Bilimsel Komitesi (The Scientific Committee of Animal Nutrition, SCAN)’nin değerlendirmeleri sonucunda Avrupa Birliği’nde yasaklanması kararı alınmıştı (36). Sonrasında, sadece dört antibiyotik türevinin (bambermycin,

avilamycin, salinomycin ve monensin) hayvan yemlerinde kullanım lisansları devam etmiştir. 2006 yılından itibaren ise bu ürünlerin tamamını kapsayan yasak yürürlüğe girmiştir (9).

Mikrobiyal yem katkıları hayvan yemlerindeki katkılarla ilgili 23 Kasım 1970 tarihli ve 70/524/EEC sayılı Konsey Direktifi kapsamına alınmış olup, bu Direktif beş kez değiştirilmiştir. 23 Temmuz 1996 tarihli ve 96/51/EC sayılı Konsey Direktifi tarafından yapılan son değişiklik, 2003 yılında hayvan beslemede katkı maddelerinin kullanımı, izlenmesi, etiketleme ve ambalajlanması ile ilgili kuralları belirleyen 1831/2003 sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konseyinin yayımlanmış olduğu yeni Yönetmelikle yürürlükten kaldırılmıştır (35). 1831/2003 sayılı Yönetmelik içerisinde yer alan mikroorganizmalar zooteknik katkılar kategorisi içerisinde, hayvanlara verildiğinde barsak florası üzerinde olumlu etkisi olan mikroorganizmalar olarak, barsak flora stabilizatörleri veya diğer kimyasallar olarak tanımlanmış maddeler içerisine dahil edilmiştir. Üretim verilerinden garanti veya depolama verilerinin sona erme tarihi, kullanım talimatları, suş kimliklendirme numarası ve gram başına koloni oluşturma birimi (cfu) sayısı gibi mikroorganizmalar için gerekli olan spesifik etiketleme koşulları gibi hususlar bu yönetmelik kapsamındadır (4).

Türkiye’de Ağustos 2013 itibariyle 2002/66 sayılı “Yem Katkı ve Premikslerin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğ” hükümleri doğrultusunda hareket edilmektedir. Ayrıca, 1831/2003/EC

sayılı Yönetmelik uyumlaştırılarak, 18.07.2013 tarihli ve 28711 sayılı Resmi Gazete’de “Hayvan Beslemede kullanılan Yem Katkı Maddeleri Hakkında Yönetmelik” yayımlanmıştır. Bu Yönetmelik piyasaya sürülecek ve kullanılacak olan yem katkı maddelerinin onaylanmasına ilişkin usul ve esaslar ile yem katkı maddeleri ve premikslerin denetimi ve etiketlenmesine dair kuralları belirlemek amacıyla hazırlanmış olup, Ocak 2014’den itibaren yürürlüğe girecektir.

Probiyotiklerin Buzağı Beslemede Kullanılması

Genç hayvanların hızlı bir şekilde büyümeleri ve sağlıklı olmaları ekonomik açıdan önemli olup, bu sindirim sisteminin gelişimi ile yakından ilişkilidir. Buzağı doğduğunda sahip olduğu sindirim organlarının kapasite ve fonksiyonları yetişkin bir sığırla aynı değildir. Yeni doğan buzağılarda, rumen, henüz gelişmemiş, steril ve fonksiyonel değildir. Örneğin; bir sığırın rumeni sindirim sisteminin tek başına %85’ini oluştururken, yeni doğan buzağılarda rumen sindirim sisteminin %25’ini oluşturmaktadır (32).

Bir buzağının normal anatomik ve fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için hakiki mide olarak kabul edilen rumenin gelişiminin teşvik edilmesi gerekmektedir. Buzağılar doğduklarında rumenin muskolarizasyonu, damarlaşması, hacmi ve papillaların gelişimi en düşük seviyededir. Rumenin anatomik olarak geliştiğinin en önemli göstergesi papillaların uzunluğudur. Rumende meydana gelen uçucu yağ asitleri (başlıca bütirat ve propiyonat) papillaların

gelişmesini olumlu yönde etkilemektedir. Dolayısıyla, papillalar rumen duvarından daha fazla emilimin olmasına olanak sağlamaktadır (20).

Buzağılar doğduklarında steril (germ-free) olup, doğumla birlikte annesi ve diğer hayvanlarla temas kurarak hızlı bir şekilde mikrofloraya sahip olurlar (11). Bir günlük yaşta bakteriyel popülasyonun çoğunluğunu aerobik mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Kuru madde alımıyla birlikte bakteri sayısı ve tipindeki değişiklik aneorob mikrororganizmalara doğru kaymaktadır (7).

Mikrobiyal kültürler buzağılarda antibiyotik kullanımı yerine veya antibiyotik kullanımını azaltmak için süttten kesmeyi takiben morbidite olaylarını azaltmak, büyüme performansını, yemden yararlanmayı ve günlük canlı ağırlık artışını arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (26). Bu etkilerini genellikle sürdürülebilir normal bir bağırsak mikroflorası oluşturarak göstermektedirler (2).

Buzağılarda yemin önemli bir kısmının sindiriminin barsaklarda olması nedeniyle, zararlı mikroorganizmaların barsak ortamında çoğalması gibi sürekli bir risk bulunmaktadır. Yeni doğan buzağılar sıklıkla nakil, süttten kesim, aşılama, boynuz kesme gibi çevresel faktörlerin oluşturduğu stresin altındadır (26). Bu durum ishal vakalarının artma olasılığına ve canlı ağırlık kayıplarına neden olmaktadır. Bu süreçte süt, süt ikame yemi, kolostrum veya suya *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Streptococcus spp.* ilavesinin barsak florasındaki patojen bakterilerin gelişimini engellemesine, yararlı

mikroorganizmaların tüketimi barsak mukozası zarar görmüş buzağuların gastrointestinal sistemlerinin hızlı bir şekilde normal fonksiyonlarına dönmesine ve bu yararlı mikroorganizmaların kolonize olmasına imkan tanımaktadır (24).

Beharka ve ark. (6), probiyotik olarak kullanılan *Aspergillus oryzae*'nin yeni doğan 40 baş Holştayn ırkı buzağıda performans ve rumen gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, probiyotik katkısı alan buzağuların bir hafta daha erken sürede sütten kesildikleri gözlenmiştir. Özellikle *Aspergillus oryzae* bu etkisini buzağuların rumenindeki oksijeni kullanarak, selüloolitik, hemiselüloolitik, pektinolitik ve amilolitik özellikte anaerobik rumen mikroorganizmaların sayısını ve yemlerin sindirimini arttırdığı böylece total UYA, asetik asit ve propiyonik asit konsantrasyonlarını yükselterek rumen flora ve faunasının gelişimine katkı sağlamak yoluyla gerçekleştirdiği kaydedilmiştir.

Abe ve ark. (1) *Bifidobacterium pseudolongum* M-602 veya *Lactobacillus acidophilus* LAC-300'den her sabah süt ikame yemi ile birlikte 3×10^9 cfu/ml dozda günlük 45 baş Holştayn ırkı buzağıya vererek etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda, laktik asit üreten bakterilerin iki tipi arasında kayda değer bir farklılık bulunmamasına karşın, bu suşların her ikisinin ağız yoluyla alımlarını takiben buzağılarda canlı ağırlık artışı sağladığı ve yemden yararlanma oranını iyileştirdiği ancak gruplar arasında dışkı skoru bakımından önemli bir farklılık bulunmadığı, bunun nedeninin ise süt ikame yemi

içerisindeki antibiyotik katkısının patojenik bakterilerin üremesini engellemesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Antibiyotik kullanılmadan yapılan ikinci denemede ise probiyotikle beslenen buzağuların canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanmada artış şekillendiği ayrıca kontrol grubuna kıyasla ishal vakası sıklığında azalmalara da yol açtığı saptanmıştır.

Cruywagen ve ark. (14) günlük buzağulara süt ikame yemi ile birlikte günde iki öğün 1 ml (5×10^7) canlı *Lactobacillus acidophilus* verilmesinin sütten kesim ağırlığı, yemden yararlanma ve buzağuların sağlığına bir etkisinin olmadığı, gruplar arasında genel görünüş ve ishal tedavisine cevap olarak farklılık bulunmadığı, ancak *Lactobacillus acidophilus* tüketen buzağuların 2 haftalık süreçte başlangıç canlı ağırlığını korurken, katkısız süt ikame yemi ile beslenen buzağuların canlı ağırlığında bu zaman diliminde % 4'lük bir azalma şekillendiği ifade edilmiştir. Çalışma sonucunda Cruywagen ve ark. (14) buzağuların yaşamlarının ilk birkaç haftasında hastalıklara karşı savunmasız ve duyarlı olduklarından hastalıklara karşı direnç oluşumunun geliştirilmesi için doğumdan itibaren ilk 2 haftalık dönemde profilaktik amaçlı probiyotik kullanımının faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

Higginbotham ve ark. (21), 38 baş Holştayn ırkı buzağıda rasyonlarına katılan *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* ve *Aspergillus oryzae* fermentasyon ürünlerinden oluşmuş canlı mikrobiyal ürünün (Fastrack®) etkilerini

araştırmışlardır. Uygulanan ürünün canlı ağırlığa, canlı ağırlık kazancına, toplam kuru madde tüketimi ve yemden yararlanma oranına bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Dışkı skoru 3 haftalık yaşta probiyotik verilen buzağılarda daha düşük bulunmuş, ancak diğer haftalarda önemli bir farklılık görülmemiştir. Ayrıca 0, 14 ve 28. günlerdeki fekal koliform ve laktobasil sayıları benzer bulunmuştur.

Laktobasiller buzağuların normal barsak mikroflorasında bulunmakta olup (37), *Salmonella* (17, 22) ve *Escherichia coli* (39) gibi patojen etkenlerin bazı etkilerinin kontrol edilmesinden sorumlu oldukları da belirtilmektedir. Bu patojenler buzağuların yaşamlarının ilk haftalarında ishal vakalarında sıklıkla görülen etkenlerdir. Sindirim kanalında *Lactobacillus spp.* düzeyinin düşük olması genç hayvanların yetiştirilmesinde sıklıkla karşılaşılan ve ciddi ekonomik kayıplara neden olan ishal vakalarına sebebiyet vermektedir. Görgülü ve ark. (18) *Lactobacillus spp.*'nin 3 günlük yaşta Holştayn ırkı erkek buzağuların performansı ve sağlığı üzerine etkilerini belirlemek amacıyla süttten kesim dönemine kadar bir çalışma yürütmüşlerdir. Buzağulara sabah sütü ile birlikte günlük 2 g probiyotik kültürü verilmesinin günlük canlı ağırlık, kaba yem, konsantre yem ve toplam yem tüketimi ile süttten kesim ağırlığı bakımından bir farklılık yaratmadığı saptanmıştır. Kontrol grubunda bulunan buzağulardan sekizinde ishal ve şişkinlik gözlenmiş; bunlardan üç tanesi ölmüş, geri kalanı ise ilaçlı tedaviye deneme sürecinde olumlu yanıt vermiştir. Probiyotik uygulanan grupta ise sadece bir hayvan ilaçlı tedaviye yanıt vermeyerek ölmüştür. Ayrıca

ishal ve şişkinlik vakalarından dolayı zarar gören buzağular için tedavi masraflarının kontrol grubunda daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sonuçta kontrol grubu ile probiyotik uygulanan buzağuların süttten kesim dönemi içerisinde büyüme performansı bakımından bir farklılık bulunmadığı ancak probiyotik uygulanan grubun sağlık ve tedavi masrafları açısından kontrol grubundan daha üstün oldukları gözlenmiştir.

Ruminantların sindirim sisteminde gelişimin artması için normal mikrofloranın lokalizasyonu önemli bir faktördür. Probiyotikler bu duruma katkıda bulunabilecek seçeneklerden bir tanesidir. Bakhshi ve ark. (5), ağırlıkları 43 ± 5 kg olan 40 baş Holştayn ırkı buzağıda probiyotiklerin performans, yem tüketimi, kan parametreleri ve dışkıdaki koliform bakteri sayısına etkilerini belirlemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu amaçla birinci gruba günde 2 kez 4 lt süt, ikinci gruba günde 2 kez 4 lt sütle birlikte probiyotik katkısı, üçüncü gruba 1 kez 4 lt süt, son olarak dördüncü gruba günde 1 kez 4 lt sütle birlikte probiyotik katkısı verilmiştir. Çalışmada kullanılan probiyotik kültürü, *Bacillus subtilis* (CH 201) ve *Bacillus lishniformis* (CH 200) içeren ticari bir preparattır. Kontrol grupları (2. ve 4. grup) sütle birlikte her gün 1 g, 3.2×10^9 cfu dozunda probiyotik almışlardır. Probiyotik verilmesinin buzağuların yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, fekal koliform düzeyi, ishal vakası sayısı ve kan albumin düzeylerini etkilemediği görülmüştür. Ortalama günlük canlı ağırlık kazancının günde 2 kez süt + probiyotikle beslenen buzağuların, günde 1 kez süt + probiyotikle beslenen buzağulardan

önemli miktarda yüksek olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak Bakhshi ve ark. (5) probiyotik kullanımının buzağuların günlük performansına etkisinin bulunmadığını, ancak sütle besleme sıklığının performans üzerine etkisinin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Mokhber-Dezfouli ve ark. (29), bazı probiyotiklerin canlı ağırlık kazancı, vücut yüksekliği, ishal vakaları ve sağlık koşulları üzerine etkilerini araştırmak için toplam 120 baş buzağı kullanmışlardır. Her iki grup başlangıçta süt ile beslenmiş sonra buzağı başlangıç yemine (%21 HP, %53 HY) geçilmiştir. Çalışma süresince deneme grubuna probiyotik karışımından (*Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*, *Aspergillus oryzae* ve *Candida pinotopesti*) toplam 8×10^8 cfu/g düzeyinde verilmiştir. Probiyotik karışımı buzağuların tamamının süttten kesileceği 90 günlük yaşa kadar günlük aldıkları süt içerisine her bir buzağı için 0.25 g olacak şekilde verilmiştir. Her iki grupta da klinik olarak ishal vakası gözlenmiştir. Kontrol grubunda oluşan ishal vakası sayısı 35 iken probiyotik uygulanan grupta 11 olarak tespit edilmiş ve bu farklılığın önemli olduğu gözlenmiştir ($P < 0.01$). Kontrol grubunda dışkı %7 şiddetli sıvı, %16 sulu, %41 yumuşak ve geri kalanı normal formda iken, deneme grubunda ise şiddetli sıvı formunda dışkının bulunmadığı sadece %9 sulu ve %11 yumuşak formunda geri kalanının da normal formda olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak Mokhber-Dezfouli ve ark. (29) probiyotik kullanımının canlı ağırlık kazancında artış şekillendirdiğini ve ishal vakalarını azaltarak

hayvanların genel sağlık durumlarını önemli düzeyde geliştirdiğini kaydetmişlerdir.

Propionibacteria'ların buzağı beslemede probiyotik olarak kullanımı yaygın değildir. *Propionibacteria*'lar rumen içerisindeki propiyonat ve bütirat konsantrasyonunu artırmak suretiyle rumen gelişimini uyarmaktadır. Adams ve ark. (3) Avustralya'da izole edilen yeni bir bakteri suşu olan *Propionibacterium jensenii* 702'nin buzağulardaki büyüme performansı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla yirmidört baş Holştayn ırkı buzağı deneme ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Deneme grubuna 1×10^8 ve 1.2×10^9 cfu/kg/gün dozunda PJ702 verilmiştir. PJ702 verilen deneme grubunda iki haftalık yaştan itibaren bakterilerin sindirim kanalından geçişlerinin başarılı olduğu ve PJ702 alan buzağuların süttten kesim dönemi öncesi ve sonrasında daha yüksek canlı ağırlık kazancı sağladıkları, ayrıca bu suşun kan hematolojisi ve biyokimyası üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Frizzo ve ark. (16), sığır kaynaklı *Lactobacillus casei* DSPV 318T, *Lactobacillus salivarius* DSPV 315T ve *Pediococcus acidilactici* DSPV 006T'den oluşan laktik asit bakteri kültürlerinin inokule edilmesi sonucunda süt ikame yemi ve kurutulmuş peynir altı suyu tozu ile beslenen buzağulardaki büyüme performansı ve sağlık durumlarına olan etkilerini değerlendirmek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Bu amaçla 16 baş erkek buzağı iki homojen gruba bölünmüştür. Üç mikroorganizmayı içeren probiyotik kültür deneme grubu buzağularına günlük 3×10^9

cfu/kg canlı ağırlık dozunda ağız yoluyla 35 gün sürecince verilmiştir. Her iki grubun rasyonları günde iki kez toplam 4 lt süt ikame yemi ve 200 g kurutulmuş peynir altı suyundan oluşmuştur. Probiyotik verilen buzağuların daha fazla canlı ağırlık artışı ve toplam yem maddesi alımı sağladıkları gözlenmiş, verilen kültürün başlangıç yeminin erken tüketilmesini teşvik ettiği belirtilmiştir. Başlangıç yeminin erken tüketilmeye başlanmasından dolayı rumen, omasum ve retikulumun erken gelişimi teşvik edilmiş ve böylece süten kesimin hızlandırıldığı belirtilmiştir. Ayrıca daha düşük dışkı kıvam indeksinin görülmesinin ishal sıklığının azaldığının bir göstergesi olduğu ifade edilmiştir.

Probiyotiklerin Buzağulara Veriliş Şekilleri ve Muhafazası

Probiyotik ürünler teorik anlamda bağırsak mikroflorasını geliştirmesine rağmen, buzağularda uygulanmasında zorluklarla karşılaşabilmektedir. Örneğin, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus spp.*'den oluşan probiyotik preparatlarının 22-25°C'de ve kuru yerde depolanmaları gerekmektedir. Depolama sıcaklığı 30°C'nin üstüne çıktığında canlılıklarını kaybetmektedirler. Buzağular için en yaygın olarak kullanılan probiyotikler besleme öncesinde süt veya süt ikame yemlerine katılmak üzere yem katkısı olarak satılırken, diğerleri jel, macun veya bolus olarak tatbik edilmektedir. Piyasada bulunan bazı ürünler bireysel organizmaların saf suşlarını içerirken, en fazla tercih edilen ürünler bakteri, maya ve mantarların birkaç kombinasyonundan oluşmaktadır (34).

Probiyotiklerin pelet yemlerde kullanılması, peletleme işleminde uygulanan ısı ve basıncın genel olarak mikroorganizmaları öldürmesi nedeniyle zordur. Probiyotik olarak kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* mayası ve *Bacillus spp* bakterileri peletleme sıcaklığına dayanıklı iken *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus spp* bakterilerinde peletleme sıcaklığına bağlı olarak önemli derecede kayıplar görülmektedir (34).

Sonuç

Probiyotik verilmesinin gelişme sürecinde bulunan buzağuların sağlık durumları üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla bugüne kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır. Buzağular özellikle yaşamlarının ilk haftalarında intestinal enfeksiyöz hastalıklara karşı duyarlıdır. Çalışmalar buzağı rasyonlarına katılan probiyotiklerin rekabetçi baskılama ile patojenik bakteri türleri üzerine toksik etki yapabilecek belirli bileşikler üreterek ve rekabetçi dışlama yoluyla bağırsak mukozasına patojenik mikroorganizmalardan daha önce bağlanarak bunların sindirim sisteminde tutunmalarını engellemek suretiyle buzağuların yaşamlarının ilk dönemlerinde şekillenebilecek ishal vakalarının sıklığında azalmalara neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca süt ikame yemlerine probiyotik ilavesiyle mortalite oranlarında ve tedavi masraflarında düşme eğilimi görülmüştür.

Probiyotik katkısı alan buzağuların almayan buzağulara göre daha erken sürede süten kesildiklerini rumen mikroorganizmaların sayısını ve yemlerin

sindirimini arttırdığı böylece daha erken rumen flora ve faunasının gelişimine katkı sağladığı kaydedilmiştir.

Ayrıca araştırmalardan elde edilen sonuçlar probiyotik kullanımının buzağılarda yemden yararlanma ve canlı ağırlık artışı üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Ancak yapılan araştırmalarda süten kesme, nakil, boynuz kesme, aşılama gibi çevresel faktörlerin probiyotiklerin etkinlikleri arasında farklılıklara neden olduğu görülmüş, bu nedenle probiyotikler hakkında daha kesin sonuçlar elde edebilmek amacıyla denemelerin farklı koşullarda yapılması ve özellikle dış faktörlerden etkilenen sindirim sistemi mikroflorası üzerine yoğunlaşılması daha faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Abe F, Ishibashi N, Shimamura S** (1995): Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J. Dairy Sci.* 78: 12
2. **Abu-Tarboush HM, Al-Saiady MY, Keir El-Din AH** (1996): Evaluation of diet containing lactobacilli on performance, fecal coliform, and lactobacilli of young dairy calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57: 39-49.
3. **Adams MC, Luo J, Rayward D, King S, Gibson R, Moghaddam GH** (2008): Selection of a novel direct-fed microbial to enhance weight gain in intensively reared calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145: 41-52.
4. **Anadon A, Martinez L, Martinez MA** (2006): Probiotics for animal nutrition in the European Union Regulation and Safety Assessment.
5. **Bakhshi N, Ghorbani GR, Rahmani HR, Samie A** (2006): Effect of probiotic and milk feeding frequency on performance of dairy Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 1(2): 113-119.
6. **Beharka AA, Nagaraja TG, Morrill JL** (1991): Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *J. Dairy Sci.* 74: 4326-4336.
7. **Beharka AA, Nagaraja TG, Morrill JL, Kennedy GA, Klemm RD** (1998): Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 81: 1946-1955.
8. **Callaway ES, Martin SA** (1997): Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci.* 80: 2035-2044.
9. **Cartman ST, La Razione RM** (2004): Spore probiotics as animal feed supplements pp. 155-161. In: *Bacterial Spore Formers: Probiotics and Emerging Applications*. Eds. Ricca E, Henriques AO, Cutting SM.
10. **Chateau N, Casteuanos I, Deschamps AM** (1993): Distribution of pathogen inhibition in the *Lactobacillus* isolates of a commercial probiotic consortium. *Journal of Applied Microbiology.* 74: 136-40.
11. **Chaucheyras F, Durand H** (2008): Probiotics in animal nutrition and health. *Lallemand Animal Nutrition*. 19 Rue des Briquetiers, 31702 Blagnac, France; INRA Unit of Microbiology, CRCLer montFerrand/Theix, 63122 Saint-Genès Champanelle, France; fchauc@clermont.inra.fr

12. **Chiquette J** (2009): The Role of Probiotics in Promoting Dairy Production. *WCDS Advances in Dairy Technology* 21: 143-157
13. **Choi YJ, Kang SK, Park J, Hong-Gu Lee A, Kima MK** (2011): Effect of Feeding Direct-fed Microbial as an Alternative to Antibiotics for the Prophylaxis of Calf Diarrhea in Holstein Calves. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24, No 5: 643-649.
14. **Cruywagen CW, Jordaan I, Venter L** (1996): Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. *J. Dairy Sci.* 79(3): 483-486.
15. **Ewing WN** (2008): The Living Gut. Manor Farm, Main Street, Thrumpton Nottingham, NG11 0AX, United Kingdom.
16. **Frizzo LS, Sotto LP, Zbrun MV, Bertozzi E, Sequeira G, Armesto RR, Rosmini MR** (2010): Lactic acid bacteria to improve growth performance in young calves fed milk replacer and spray-dried whey powder. *Anim. Feed Sci. Technol.* 157:159-167.
17. **Gill HS, Shu Q, Lin H, Rutherford KJ, Cross ML** (2001): Protection against translocating *Salmonella typhimurium* infection in mice by feeding the immunoenhancing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strain HN001. *Medical Microbiology and Immunology.* 190: 97-104.
18. **Görgülü M, Siuta A, Ongel E, Yurtseven S, Kutlu HR** (2003): Effect of probiotic on growing performance and health of calves. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6(7): 651-654.
19. **Guillot JF** (2003): Probiotic feed additives. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* In: Anadon A, Martinez L, Martinez MA (2006). Probiotics for animal nutrition in the European Union Regulation and Safety Assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 45: 91–95
20. **Heinrichs AJ, Lesmeister KE** (2005): Rumen Development in the Dairy Calf. *Calf and Heifer Rearing.* Nottingham: Nottingham University Press. pp 53-65.
21. **Higginbotham GE, Robison JD, Atwill ER, Das Gracas C, Pereira M** (1998): Effect of a direct Feed microbial product on calf performance and fecal flora. *The Professional Animal Scientist.* 14: 108-113.
22. **Hudault S, Liévin V, Bernet-Camard MF, Servin AL** (1997): Antagonistic activity in vitro an in vivo by *Lactobacillus casei* (Strain GG) against *Salmonella typhimurium* C5 infection. *Applied and Environmental Microbiology.* 63: 513-518.
23. **Seo JK, Kim SW, Kim MH, Upadhaya SD, Kam DK, Jong K HA** (2010): Direct-fed Microbials for Ruminant Animals. Department of Agriculture Biotechnology and Research Institute for Agriculture and Life Sciences, College of Agriculture and Life Science, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
24. **Kantautaitė J, Oberauskas V, Sutkeviciene R, Sederevicius A** (2006): The effect of probiotic strains of *Lactobacillus* on the microbiological parameters in the faeces of neonate calves. *Veterinarija ir Zootechnika,* 36: 35-38.
25. **Karaayvaz BK, Alçiçek A** (2004): Ruminantlarda Probiyotik Kullanımının Rumen Parametrelerine Etkisi. 4. Ulusal Bilim Kongresi, Isparta.

- 26. Krehbiel CR, Rust SR, Zhang G, Gilliland SE** (2003): Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81: 120-132.
- 27. Martin SC, Nisbet DJ** (1992): Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 75: 1736-1744.
- 28. Michael D, Abney BS** (2001): The effects of feeding direct-fed microbials and prebiotics on receiving calf performance, health, and fecal shedding of pathogens. A Thesis in Animal Science (Texas Tech University).
- 29. Mokhber-Dezfouli MR, Tajik P, Bolourchi M, Mahmoudzadeh H** (2007): Effects of probiotics supplementation in daily milk intake of newborn calves on body weight gain, body height, diarrhea occurrence and health condition. *Pakistan Journal of Biological Science.* 10: 3136-3140.
- 30. Montes AJ, Pugh DG** (1993): The use of probiotics in food-animal practice. *Vet. Med., Marc:* 282-288.
- 31. Muralidhara KS, Sheggeby GG, Elliker PR, England DC, Sandine WE** (1977): Effect of feeding Lactobacilli on the coliform and Lactobacillus flora of intestinal tissue and faeces from piglets. *Journal of Food Protection.*
- 32. Nehls S** (2003): Raising Dairy Replacements. Lakeshore Technical College, Cleveland, Wisconsin.
- 33. Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR** (1998): Acidosis in cattle: (A Review). *J. Anim. Sci.* 76: 275-286.
- 34. Quigley J, PHD** (2011): Direct-Fed Microbials (Probiotics) In Calf Diets. A Bovine Alliance on Management and Nutrition (Bamn) Publication. <http://nahms.aphis.usda.gov/dairy>.
- 35. Regulation (EC) No 1831/2003** of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *OJ L 268, 18.10.2003, p. 29-43.*
- 36. Scan** (1999): Opinion of the Scientific Steering Committee on antimicrobial resistance. European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General. (SCAN) Scientific.
- 37. Schneider R, Rosmini MR, Ehrmann M, Vogel R** (2004): Identification of lactic acid bacteria form the typical microbiota found in artificial reared calves. (in Spanish, with English abstract). *Revista FAVE-Ciencias Veterinarias* 3: 7-15.
- 38. Shortt C** (1999): The probiotic century: historical and current perspectives. Yakult, Acton, London W3 7SX, UK.
- 39. Shu Q, Gill HS** (2002): Immune protection mediated by the probiotic Lactobacillus rhamnosus HN001 (DR20TM) against Escherichia coli O157:H7 infection in mice. *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* 34: 59-64.
- 40. Vanbelle M, Teller E, Focant M** (1990): Probiotics in animal nutrition: (A review). *Arch Tierernähr.* 40(7): 543-567.
- 41. Vasiljevic T, Shah NP** (2008): Probiotics- From Metchnikoff to Bioactives. *International Dairy Journal* 18: 714-728.
- 42. Yalçın S, Çiftçi İ, Önel AG, Yılmaz A** (1996): Yem katkı maddelerinde gelişmeler. 3. Uluslar arası Yem Kongresi ve Yem Sergisi, 1-3 Nisan, 1996 Ankara.