



The Using of Antimicrobial Peptides in Broiler Feeding

Mehmet Akif Özcan^{1*}, Levent Gülüm², Mustafa Midilli³, Muhammet Gören⁴

^{1*}Department of Plant and Animal Production, Mudurnu Süreyya Astarçı Vocational School, Bolu Abant İzzet Baysal University, 14800 Bolu, Turkey
Corresponding author, E-mail: akifozcan@ibu.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7632-830X>

²Department of Plant and Animal Production, Mudurnu Süreyya Astarçı Vocational School, Bolu Abant İzzet Baysal University, 14800 Bolu, Turkey
E-mail: leventgulum@ibu.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8564-1664>

³Department of Poultry, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Bolu Abant İzzet Baysal University, 14030 Bolu, Turkey
E-mail: midilli_m@ibu.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3575-3304>

⁴Department of Plant and Animal Production, Mudurnu Süreyya Astarçı Vocational School, Bolu Abant İzzet Baysal University, 14800 Bolu, Turkey
E-mail: muhametgoren34@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1531-8252>

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 14/08/2018 Accepted : 17/12/2018</p> <p>Keywords: Antimicrobial peptides Broiler feeding Growth promoters Bacteriocin Sublancin</p>	<p>It is well known that alternative food additives are being researched following the prohibition of the addition of antibiotics to poultry feed as growth factors. Recently, antimicrobial peptides (AMPs) have been considered as alternatives to antibiotics. AMPs, produced by bacteria, insects, amphibians and mammals, as well as by chemical synthesis. In particular, their natural antimicrobial properties and their low tendency to create resistance in micro-organisms suggest that they might be a good alternative to antibiotics. They are not only effective against bacteria, but are also known to be effective against fungi and viruses. In studies on pigs and broiler chickens, they have been shown to be beneficial effects on growth performance, nutrient digestibility, the immune system, intestinal morphology and gut microbiota. Antimicrobial peptides are small biological molecules formed from 12-60 amino acids. AMPs have been reported to kill bacteria, in particular those showing resistance to multiple antibiotics. AMPs block the development of harmful bacteria while encouraging the growth of beneficial bacteria. For instance, it has been reported that sublancin reduces the <i>Clostridium perfringens</i> count while increasing the numbers of <i>Lactobacilli</i>. Furthermore, they have been proved to have a strong effect against <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. Some of the AMPs used in broiler chicken feeding are sublancin, secropin, magainin, nisin and defensin. These peptides can be used by adding them to feed or to drinking water. This review has attempted to find an answer to the question of whether AMPs added to the feed of broiler chickens can be an alternative to antibiotics by examining previous studies.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(1): 1-6, 2019

Etlık Piliçlerin Beslenmesinde Antimikrobiyal Peptidlerin Kullanımı

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makale</i></p> <p>Geliş : 14/08/2018 Kabul : 17/12/2018</p> <p>Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal peptidler Etlık Piliç besleme Büyütme faktörü Bakteriyosin Sublansin</p>	<p>Kanatlı hayvanların beslenmesinde yemlere büyütme faktörü olarak katılan antibiyotiklerin yasaklanması ile antibiyotiklere alternatif olabilecek yem katkıları araştırılmıştır. Probiyotikler, Prebiyotikler, Organik asitler ve bitkisel ekstraktların yanı sıra antimikrobiyal peptidlerin de antibiyotiklere alternatif olabileceği üzerinde durulmaya başlanmıştır. Antimikrobiyal peptidler; bakteriler, böcekler, amfibiler ve memelilerce sentezlenebilmekle birlikte kimyasal sentez yoluyla da üretilebilmektedir. Özellikle doğal antimikrobiyal özellikleri ve mikroorganizmalara direnç oluşturma eğilimlerinin düşük olması antibiyotiklere iyi bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir. Sadece bakterilere karşı değil, mantarlara ve virüslere karşı da etkili olduğu bildirilmektedir. Domuz ve etlik civcivlerle yapılan çalışmalarda büyüme performansı, besin maddesi sindirilebilirliği, immun sistem, bağırsak morfolojisi ve bağırsak mikrobiyotası üzerine yararlı etkileri saptanmıştır. Antimikrobiyal peptidler 12-60 aminoasitten oluşan küçük biyolojik moleküllerdir (<10kDa). Antimikrobiyal peptidlerin özellikle birçok antibiyotige direnç gösteren bakterileri öldürdüğü bildirilmiştir. Antimikrobiyal peptidler zararlı bakterilerin gelişimin engellerken yararlı bakteri gelişimini teşvik etmektedirler. Örneğin sublancin'in <i>Lactobacilli</i> sayısını artırırken, <i>Clostridium perfringens</i> sayısını azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca <i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Pseudomonas aeruginosa</i>'ya karşı güçlü etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Antimikrobiyal peptid ilavesi etlik piliçlerde bağırsak ve dışkıda koliform sayısını azalttığı bildirilmiştir. Etlık piliçlerin beslenmesinde kullanılan antimikrobiyal peptidlerin bazıları; sublancin, secropin, magainin, nisin ve defensindir. Bu peptidler yeme veya içme suyuna katılarak kullanılabilir. Bu derlemede etlik piliçlerin rasyonlarına antibiyotiklere alternatif olarak katılan antimikrobiyal peptidlerin etkileri üzerinde yapılan çalışmalar incelenmiştir.</p>



Giriş

Kanatlı hayvanların beslenmesinde yemlere büyütmeye faktörü olarak katılan antibiyotiklerin yasaklanması ile antibiyotiklere alternatif olabilecek yem katkıları araştırılmaya başlanmıştır. Bu araştırmalar daha çok enzimler, probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler, bitkisel ekstraktlar ve bitki esansiyel yağları üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu katkılarla birçok çalışma yapılarak hayvanlar üzerindeki etkileri ortaya konulmuştur (Demir ve ark., 2003; Özcan, 2016; Özcan ve ark., 2016). Son zamanlarda yukarıda bahsedilen yem katkı maddelerinin haricinde antimikrobiyal peptidlerin de (AMP) Doğal antimikrobiyal özellikleri, seçicilikleri, hareket hızları ve bakteriyel direnç geliştirmedeki düşük eğilimleri nedeniyle antibiyotiklere alternatif olabileceği üzerinde durulmaya başlanmıştır. (Duru ve Saçaklı, 2017).

AMP'ler hayvan ve bitki yetiştiriciliğini geliştirme potansiyelinden dolayı yoğun ilgi uyandırmıştır (Hancock ve Lehrer, 1998). AMP'ler, genellikle geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite sergileyen amino asit bileşimleri ve yapısı bakımından birbirinden farklı olan çeşitli peptidlerdir. Bu nedenle, AMP'ler sağlık ve tarımda terapötik kullanım için yüksek potansiyele sahiptir (Maróti ve ark., 2011). Antimikrobiyal peptidler; tek hücreli mikroorganizmalar ile böcekler, amfibiler ve memeliler gibi çok hücreli organizmalarca sentezlenebilmekle birlikte kimyasal sentez yoluyla da üretilebilmektedir (Keymanesh ve ark., 2009). Doğal AMP'lerin antimikrobiyal aktivitesinin, doğal peptidlerin yapısal özelliklerini değiştirerek geliştirilebileceği bildirilmiştir (Choi ve ark., 2013a).

Antimikrobiyal peptitler bakteriyel hücrelerin dış zarlarını hedef alarak etkisini göstermektedir. Bununla birlikte, bu peptitlerin son yıllarda çok fazla ilgi görmesinin başlıca nedeni, bakterilerin kendilerine karşı direnç geliştiremeyeceği düşüncesidir (Bradshaw, 2003).

Antimikrobiyal peptitlerin çoğu, hücrelerde yapısal olarak bulunur ve salgı granüllerinde depolanır. Bir AMP olan bakteriyosinler hayvanların gastrointestinal sisteminde, toprakta, fermente süt ürünlerinde, peynir veya et gibi gıdalarda bulunabilmektedir (Jozefiak ve ark., 2012). Günümüzde 700'den fazla doğal antimikrobiyal peptid bilinmektedir (Duru ve Saçaklı, 2017). Doğadaki sayıları büyük olasılıkla birkaç kat daha yüksektir, çünkü genom analizleri ve son biyolojik veriler, en azından bazı bitki türlerinin birkaç yüz binden fazla farklı AMP üretebildiğini ortaya çıkarmıştır (Maróti ve ark., 2011). Sadece gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı değil, mantarlara ve virüslere karşı da etkili olduğu, hatta zarflı virüsler, parazitler ve kanserli hücreler üzerinde de etkili oldukları belirtilmektedir (Powers ve ark., 2003; Nguuyen ve ark., 2011; Li ve ark., 2012). Antimikrobiyal peptidlerin özellikle birçok antibiyotiğe direnç gösteren bakterileri öldürdüğü bildirilmektedir. AMP'lerin metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa*'yı inhibe edebileceği bildirilmektedir (Wang ve ark., 2016).

Antimikrobiyal peptitler arasında, defensinler, katelisinler, histatinler, katepsin G, azurocidin, kimaz, eozinofilden türetilmiş nörotoksin, laktoferrin ve diğerleri bulunur (Wang ve ark., 2009). Etlik piliçlerin beslenmesinde kullanılan antimikrobiyal peptidlerin

bazıları; sublancin, secropin, magainin, nisin ve defensindir. Bu peptidler yeme veya içme suyuna katılarak kullanılabilir. Etlik piliç rasyonlarına secropin ilavesinin ham yağ sindirilebilirliğini ve azot tutulumunu artırdığı bildirilmektedir. Sublancin ilavesi etlik piliçlerde duodenumda villus yüksekliğini artırmış, *Clostridium perfringens* gelişimine rağmen villus/kript oranını artırdığı gözlenmiştir. Antimikrobiyal peptidler zararlı bakterilerin gelişimin engellerken yararlı bakteri gelişimini teşvik etmektedirler. Sublancinin *Clostridium perfringens* sayısını azaltırken *Lactobacilli* sayısını artırdığı bildirilmektedir. Böylece sublancinin nekrotik enteriti kontrol etmek için potansiyel bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (Wang ve ark., 2015). 60mg/kg düzeyinde P5 antimikrobiyal peptid ilavesinin etlik piliçlerde bağırsak ve dışkıda koliform sayısını azalttığı bildirilmektedir (Choi ve ark., 2013b).

Bu derlemede etlik piliçlerin rasyonlarında antibiyotiklere alternatif olarak katılan antimikrobiyal peptidlerin kullanımının hayvanlar üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Antimikrobiyal Peptidlerin Özellikleri

Antimikrobiyal peptitler, doğada özel metabolik yollarla üretilir ve genler tarafından kodlanır. Nötrofiller, lökositler ve gastrointestinal kanal, ürogenital sistem, ve deriyi çevreleyen epitelyal hücreler gibi birçok hücre tarafından üretilir. Birçok antimikrobiyal peptit, nötrofil, beyaz hücreler, kan, dil, deri ve domuz bağırsağından izole edilmiştir. Tavuk kanı hemoglobininin izole edilen peptidlerin antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve elde edilen antimikrobiyal maddelerin *Salmonella enteridis*, *S.Typhimurium* ve *S.infatiss* serotiplerine karşı etkili olduğu ve tavuk kanı gibi artıklardan elde edilen işlenmiş ürünlerin antimikrobiyal amaçla kullanılabilirliği ve bu yönde geliştirilen teknolojilerin ve ürünlerin sektöre önemli katkı sağlayacağı bildirilmiştir (Yıldırım ve ark., 2018). Antimikrobiyal peptidler küçük katyonik proteinlerdir (≤ 10 kDa). 12-60 aminoasitten oluşurlar. Antimikrobiyal peptitler, büyük yapısal çeşitlilik sergilemelerine rağmen, bazı ortak yapısal modeller mevcuttur (Hancock ve Lehrer, 1998).

Sekonder yapıları α -helikal peptidler, β - yapraklı peptidler, spiral peptidler ve uzun zincirli peptidler olmak üzere başlıca 4 sınıfa ayrılırlar (Duru ve Saçaklı, 2017). Bu yapılar içerisinde α -helikal peptidler, β - yapraklı peptidler doğada daha fazla bulunmaktadır (Keymanesh ve ark., 2009).

AMP'ler konakçıyı patojenik bakterilerin istilasından koruyan doğal bağışıklık sisteminin ayrılmaz parçalarıdır. Doğrudan patojenlere saldırmak dışında normal bağırsak homeostasisinin korunması ve konakçı inflamatuvar yanıtlarının modülasyonu gibi alternatif koruma mekanizmalarına da sahiptirler (Wang ve ark., 2016). Özellikle doğal antimikrobiyal özellikleri ve mikroorganizmalara direnç oluşturma eğilimlerinin düşük olması antibiyotiklere iyi bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir.

İlk kez 1980'li yıllarda dev ipek güvelerinin pupalarından (*Samia cynthia* ve *Hyalophora cecropia*)

elde edilmiştir (Jozefiak ve Engberg, 2017). Farklı peptidler farklı patojen mikroorganizmaları öldürmektedir (Huang, 2000). En büyük AMP grubu, tavşanlarda, kobaylarda, farelerde, sığırlarda, koyunlarda, keçilerde, domuzlarda, kuşlarda ve insanlarda da tanımlanmış olan defensinlerden oluşur. Defensinler, çok çeşitli hayvan ve bitki kaynaklarına ait güçlü antimikrobiyal proteinlerin bir ailesidir. Tipik olarak yaklaşık 50 amino asit büyüklüğünde olan bu proteinlerin hepsinde bakteri membranları ile etkileşime girmelerini sağlayan amfipatik β -tabaka yapıları bulunur (Bradshaw, 2003). Memeli defensinleri nötrofiller ve alveolar makrofajlarda olduğu kadar dişi üreme sistemi de dahil olmak üzere epitel hücrelerinin yanı sıra insan, sıçan ve farelerin ince bağırsak kriptlerinin Paneth hücrelerinde de tespit edilmiştir (Jozefiak ve Engberg, 2017). Amfibi derisi, zararlı mikroorganizmalara karşı savunmak için geniş spektrumlu AMP'ler bakımından zengindir. Afrikada bulunan pençeli kurbağanın (*Xenopus laevis*) derisinden izole edilen magaininler, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip bir peptid ailesidir. Magainin 2 (sentetik), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumonia* gibi birçok gram-negatif ve gram-pozitif bakteriye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Amfibilerin derilerinden yeni bir antimikrobiyal peptid olan limnochariin (sentetik), 4 gram-pozitif bakteriye ve 11 gram-negatif bakteriye karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Wang ve ark., 2016). Spesifik proteinleri hedef alan çoğu antibiyotik aksine bakteriyel membranlar üzerinde etkili oldukları bildirilmektedir (Nguyen ve ark., 2011). Antimikrobiyal peptitler, sadece geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteyi göstermekle kalmaz, aynı zamanda güçlü antifungal aktivite gösterir böylelikle mantar enfeksiyonlarının önlenmesinde de yararlı olabilir. Bunun yanı sıra antiviral etkilere de sahiptirler. İnsan katelisinidin, LL-37 ve murin cathelicidin, mCRAMP (sentetik), in vitro ve in vivo olarak influenza virüsüne karşı önemli antiviral aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (Wang ve ark., 2016). Ayrıca bağışıklık üzerine etkileri de yapılan çalışmalarda belirtilmektedir. Yine yapılan bir çalışmada domuz defensin ve bir uçucu antimikrobiyal peptitten oluşan kompozit AMP'lerle (suni) rasyona ilave edilmesinin, T hücre popülasyonlarını ve periferik kandaki T hücrelerinin proliferasyon fonksiyonunu artırdığını ve apoptotik dalak hücrelerinin yüzdelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Piliçlerde yapılan bir çalışmada, domuz antimikrobiyal peptitleri (yapay) ve tavşan kesesi rotundus antimikrobiyal peptitlerinin (yapay) bağırsak mukozası immünitesini artırdığı bildirilmektedir. Ek olarak, domuz antimikrobiyal peptitlerin, spesifik-patojen içermeyen tavukların bağırsak yolunda IgA ekspresyonunu artırdığı belirtilmekte ve aynı şekilde domuz antimikrobiyal peptitlerinin bağırsak mukozal immünitesini artırabileceği hipotezini kuvvetle desteklediği de bildirilmektedir (Wang ve ark., 2016).

Antimikrobiyal Peptidlerin Etki Mekanizması

Farklı peptidler farklı mekanizmalarla antimikrobiyal etki gösterebileceği gibi, benzer peptidlerin farklı bakteri türlerine karşı farklı mekanizmalarla etki gösterebilmektedir.. Çoğu katyonik antibiyotik etkili peptit, yüksek konsantrasyonda yeterli membran

bozulmasına neden olabilirken daha düşük konsantrasyonlarda ise diğer bakterisidal etkinliğe sahip olabilmektedir. (Bradshaw, 2003). Bütün peptidlerin ana etki alanı sitoplazmik zarlar (Hancock ve Lehrer, 1998) olup, antimikrobiyal peptidler bakteri membranlarıyla etkileşime girerek etki gösterirler. Bakteri membranlarının dış yaprakçık yüzeyleri negatif yüklü lipitleri içermekte iken, ökaryotik hücre zarlarının dış yaprakçıkları çoğunlukla nötr, çoğu AMP'ler ise pozitif yüklü olduğundan elektrostatik bir etkileşim de söz konusudur (Huang, 2000). Katyonik yapıları ve hidrofobik olmaları sayesinde herhangi bir reseptöre ihtiyaç duymaksızın direkt olarak negatif yüklü bakteri yüzeyine bağlanarak etki gösterebilirler. Bu elektrostatik etkileşim bakterilerin etkisiz hale gelmesine neden olmaktadır. Bu olay sırasında AMP'lerin hidrofilik grupları ile membran fosfolipitlerinin hidrofobik zincirleri karşı karşıya gelir, lipidler peptidlerle yer değiştirirler, böylece bakteri membranının dış yaprağı ve peptidler kümeleşir ve membran bütünlüğünü bozan kanalların oluşumuna neden olurlar (Duru ve Saçaklı, 2017). Bu etkide 4 farklı mekanizmanın rolü olduğu düşünülmekte olup bunlar; toroidal model, halı modeli, varil-stave modeli ve agregalı kanal modelidir (Li ve ark., 2012). AMP'ler bakteri hücre duvarına etki etmelerinin yanında bakteri protein ve nükleik asit sentezini ve enzim aktivitelerini inhibe ederek antibakteriyel etkilerini gösterirler (Brogden, 2005).

Antimikrobiyal Peptidlerin Etlik Piliçlerin Beslenmesinde Kullanımı

Hayvansal üretimde rasyona ilave edilen AMP'lerin etkisi üzerine yapılan araştırmalar (Wang ve ark.,2009; Ren ve ark.,2015; Wan ve ark., 2016) ağırlıklı olarak domuzlarda yapılmış olup, son yıllarda kanatlı hayvanlar üzerindeki etkilerine yönelik çalışmaların yoğunlaştığı görülmektedir (Ohh ve ark., 2010 ;Jozefiak ve ark., 2012; Choi ve ark., 2013a; Choi ve ark., 2013b; Wang ve ark., 2015; Hu ve ark.,2017).

Jozefiak ve ark (2012) tarafından etlik piliçler ile yapılan bir çalışmada, karışım halinde 3 *Clostridium perfringens* izolatları geliştirilmiş *Carnobacterium divergens* (diversin AS7) bakteriosinin büyüme performansı, sindirilebilirlik, fermentasyon süreçleri, seçilmiş mikrobiyal popülasyonlar ve histomorfoloji üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın 18, 19 ve 20. günlerinde kanatlıların yarısında günde iki kez *C. Perfringens* geliştirilmiştir. *C.perfringens* gelişimi ile canlı ağırlık kazancı (CAK) etkilenmemiş fakat yemden yararlanma oranı (YYO) 29-42. günlerde ve deneme süresince kötüleşmiştir. *C.perfringens* kursak, taşlık ve ileum içeriğinin pH'sını ve sekumda laktik asit bakteri sayısını düşürmüştür. Diversin ilavesi yem tüketimini 14-28. günlerde azaltmış, 29-42. günlerde CAK' ını artırmıştır. Diversin ilavesi AMEN seviyesini artırırken sadece bakteri geliştirilmeyen hayvanlarda kursak ve ileum içerik pH'sını azaltmıştır. Diversin taşığın laktat konsantrasyonunu artırmıştır. Kursakta laktata, süksinat ve ileum laktat konsantrasyonu da diversin ilavesi ve *C.perfringens* gelişimi ile artmıştır. Diversin ilavesi infekte olmayan hayvanlarda villus yüksekliği ve kript derinliğini düşürmüştür. Oysa ki *C.perfringens* geliştirilen hayvanlarda villus yüksekliği artmıştır. Sonuç olarak, bu

çalışma divercin AS7'nin *C. perfringens* ile ilişkili negatif etkileri kısmen dengeleyebileceğini göstermiştir.

Hu ve ark., (2017), yaptıkları bir çalışmada kronik sıcaklık stresi altında tutulan 36 adet 16 günlük yaştaki etlik piliçlerin büyüme performansı ve bağırsak fonksiyonu üzerine domuz bağırsak AMP'lerinin etkilerini değerlendirmişlerdir. Sıcaklık stresine tabi tutulan grupla karşılaştırıldığında AMP ilaveli grup daha iyi CAK ve YYO, daha az histolojik ve yapısal lezyonlar, daha yüksek villus ve bağırsak mukozal kalınlığı, daha yüksek alkanin fosfataz aktivitesi, daha fazla bağırsak intraepital lenfositler, IgA salgısının artması, goblet hücre sayısının azalması, çoğalan hücre nükleer antijeninin, ısı şok proteininin ve glukoz 6 fosfatazın düşük oranları gibi sonuçlar ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar domuz bağırsak AMP'nin, etlik piliçlerde normal bağırsak yapısını, emilim fonksiyonunu ve mukozal bağırsıklığı koruyarak bağırsak hasarını azaltıp kronik ısı stresinin olumsuz etkilerine karşı koyabildiğini etkili bir şekilde göstermektedir.

Etlik piliçler ile yapılan başka bir çalışmada, *Bacillus subtilis* tarafından üretilen bir antimikrobiyal peptid olan sublancininin hem in vitro hem de in vivo olarak *Clostridium perfringens*'e karşı inhibitör etkinliği araştırılmıştır. İn vitro çalışmada, sublancininin, lincomisin antibiyotiklerinden çok daha yüksek (0.281 μ M) düzeyde *C. perfringens*'e karşı minimum inhibitör konsantrasyona (8 μ M) sahip olduğu saptanmıştır. Taramalı elektron mikroskobu, sublancininin *C. perfringens* morfolojisine zarar verdiğini göstermiştir. *C. perfringens*, 15 ila 21 gün arasındaortalama canlı ağırlık artışında önemli bir düşüşe ve yemden yararlanma oranında belirgin bir bozulmaya neden olmuştur. Sekumda *C. perfringens* sayısında keskin bir artış görülmüştür. Sublancin veya lincomycin ilavesi sekal *C. perfringens* sayısını azaltmıştır. Lactobacilli sayıları, lincomycin muamelesiyle azalmış, fakat sublancin ilavesiyle en yüksek (5.76 mg aktivite / L su) eğilime sahip olmuştur. Enfekte kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sublancin veya lincomycin ile muamele edilen piliçlerde duodenum ve jejunumda daha yüksek villus yüksekliği ve duodenumda daha yüksek villus yüksekliği gözlenmiştir. Enfekte kontrole göre sublancin ve lincomycin'in IL-1 β , IL-6 ve tümör nekrozis faktör- α düzeylerini azalttığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, sublancininin minimum inhibitör konsantrasyonunun in vitro olarak lincomycin'den çok daha yüksek olmasına rağmen, in vivo *C. perfringens* tarafından indüklenen nekrotik enteriti kontrol etmek için linkomisinden daha az sublancin gerektiği ve sublancinin nekrotik enteriti kontrol etmek için potansiyel bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği ortaya konulmuştur (Wang ve ark., 2015).

Başka bir çalışmada tavşan *Sacculus rotundus* (ileosekal kavşakta bulunan ve kalınbağırsağın genişlemesiyle oluşan ve lenfoid doku içeren bölüm) antimikrobiyal peptidlerinin oral olarak ilavesinin piliçlerde bağırsak mukozal immün yanıtına etkilerini belirlemek amacıyla 7, 14, 21 ve 28. günde, hayvanlara 0.1 mg tavşan *Sacculus rotundus* antimikrobiyal peptid (TSRAMP) verilmiş ve TSRAMP uygulamasıyla duodenum ve jejunum villus yüksekliğinin 28, 42 ve 56. günde arttığı belirtilmiştir. Bağırsağın farklı bölümlerinde intestinal intraepitelyal lenfosit sayıları TSRAMP grubunda 28, 42 ve 56. günlerde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca

TSRAMP'ın bağırsağın her bir bölümünde IgA salgılayan hücrelerin alanını önemli ölçüde artırdığı belirtilmiştir. Bu çalışmaya göre, TSRAMP 'nin varlığının kontrol gruplarına kıyasla sağlıklı tavuklarda bağırsak ve mukozal bağırsıklık parametrelerinin yapısını etkilediğini ve önemli ölçüde değiştirdiği belirtilmiştir (Liu ve ark., 2008).

Choi ve ark.,(2013a),'nın yaptığı bir çalışmada etlik piliç rasyonlarına antimikrobiyal peptid A3 (AMP-A3) ilavesinin büyüme performansı, besin madde tutulumu, bağırsak mikroflorası ve bağırsak morfolojisine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak yapılan çalışma ile 90 mg/kg düzeyinde AMP-A3'ün etlik piliçlerin büyüme performansını, besin madde tutulumunu ve bağırsak morfolojisini iyileştirme, zararlı mikroorganizmaları azaltma ve büyüme destekleyici olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olabileceği belirtilmiştir.

Yine aynı araştırmacıların etlik piliçlere (AMP-P5) ilavesinin büyüme performansı, besin madde tutulumu, dışkı ve bağırsak içeriği mikroflorası ve bağırsak morfolojisine etkilerinin araştırdıkları başka bir çalışmada, toplam CAK ve kuru madde ve azot tutulumu 20-21 ve 34-35. günlerde pozitif kontrol ve 60mg/kg AMP-P5 ile beslenen gruplarda negatif kontrole göre daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir. AMP-P5 düzeyi arttıkça CAK (tüm dönemlerde), YYO (başlatma döneminde) ve 20-21 ve 34-35. günlerde kuru madde ve azot tutulumunun dardoğrusal olarak arttığı belirtilmiştir. Pozitif kontrol ve 60mg/kg AMP-P5 ile beslenen piliçlerin dışkılarında negatif kontrol grubuna göre 21 ve 35. günlerde daha az koliform, 35. günde daha az toplam anaerobik bakteri ve ileum ve sekum içeriğinde daha az koliform bakterisi gözlemlendiği bildirilmiştir. AMP-P5 düzeyi arttıkça doğrusal olarak 35. günde dışkıda toplam anaerobik bakteri, 21 ve 35. günde koliform bakterileri, 35. günde ileal ve sekal içerikte koliform bakteri sayılarının azaldığı, duodenum ve jejunumda villus yüksekliği, duodenum, jejunum ve ileumda villus/kript oranının doğrusal olarak arttığı, jejunum kript derinliğinin ise azaldığı belirtilmiştir. Bu çalışmaya göre 60mg/kg AMP-P5'in etlik piliçlerin büyüme performansını, besin madde tutulumunu ve bağırsak morfolojisini iyileştirmenin yanında bağırsak ve dışkı koliform bakterilerini azaltma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Choi ve ark., 2013b).

Wang ve ark., (2009) tarafından Spesifik patojen içermeyen piliçlerle yapılan bir çalışmada domuz bağırsak AMP'lerinin bağırsak mukozal bağırsıklığa etkileri değerlendirilmiştir. Domuz bağırsak AMP grubunda 21. günden 49. güne kadar duodenumda, jejunum ve ileumda mast hücreleri sayısı, intraepitel lenfositler belirgin şekilde arttığı belirtilmiştir. Bununla birlikte duodenum ve jejunumda 35. günden 49. güne kadar ve ileumda da 21. günden 49. güne kadar goblet hücreleri sayısının artmış olduğu belirtilmektedir. Ayrıca domuz bağırsak antimikrobiyal peptidlerinin bağırsak sistemi içinde farklı yerlerde salgı IgA ekspresyonunu yükselttiği belirtilmiştir. Yapılan çalışma ile domuz bağırsak AMP'nin spesifik-patojen içermeyen piliçlerin bağırsak mukozal bağırsıklık parametrelerini artırabileceği belirtilmektedir. Domuz bağırsak AMP'leri ile yapılan başka bir çalışmada Bao ve ark. (2009) domuz bağırsak AMP'lerinin etlik piliçlerde büyüme performansı ve ince bağırsak mukozal bağırsıklık cevabına etkilerini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda DBABP ilavesinin büyüme

performansını iyileştirdiği, bağırsağın besin madde absorbe yeteneğini artırdığı ve bağırsak mukozal bağırsıklığı iyileştirdiği belirlenmiştir. Ayrıca bu uygulamanın içme suyunda uygulandığında daha etkili olabileceği belirtilmiştir.

Etlık piliç rasyonlarına bir diversin AS7 sıvı preparasyon ilavesinin performans, besin madde sindirilebilirliği, laktik asit ve koliform bakterileri sayılarının yanı sıra kısa zincirli yağ asitleri ve laktik asit konsantrasyonları ve içerik pH'sı ile ifade edilen gastrointestinal sistemdeki mikrobiyal aktivite üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma ile divercin takviyeli rasyonların kullanılmasının, etlik piliçlerin gastrointestinal sistemdeki mikrobiyotanın bileşimini ve aktivitesini etkileyebileceği belirtilmektedir (Jozefiak ve ark., 2011).

Piliçlere bağırsak antimikrobiyal peptidlerinin (PBAMP) oral olarak verilmesinin humoral immün tepkisi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada muamele grubundaki hayvanlara, kuluçkadan hemen sonra PBAMP (1 mg / ml) ile takviye edilmiş içme suyu verilmiştir. PBAMP ilavesinin serumda IgG ve IgM içeriğini, dalak ve bursa fabriciusta IgM oluşturu hücreleri ve IgG oluşturu hücreleri güçlendirdiği belirtilmiştir. Ayrıca, PBAMP, IBDV aşısı uygulamasından 21 gün sonra tavuklarda enfeksiyöz bursal hastalık virüsü aşısına (IBDV) karşı antikor yanıtını artırdığı bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre, PBAMP'ın tavukların humoral immün yanıtını modüle edebildiği ve enfeksiyöz bursal hastalığı virüsü aşısının antikor titrelerini artırdığı belirtilmektedir (Yurong ve ark., 2006).

Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinen *Solanum tuberosum* cv Golden Valley patatesleri yumrularından elde edilen patates proteininin (PP) etlik piliçlerde antibiyotiklere alternatif olarak kullanımını araştırmak için yapılan bir çalışmada, rasyonda PP düzeylerinin artmasıyla dışkıda 21 ve 42.günde koliform ve 42. Günde toplam bakteri sayısında ve sekal içerikte koliform sayısında azalma görülmüştür. Golden Valley patates yumrularından elde edilen PP,% 0.75 seviyesinde kullanıldığında daha etkili bir in vivo antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca, rasyonlarda PP% 0.50 seviyesinde yer aldığı ise yem tüketimi, canlı ağırlık artışı ve besin madde metabolize edilebilirliği en üst düzeye çıkarılmıştır. Bu nedenle, patates proteininin kanatlı rasyonlarında antibiyotiklere alternatif olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir (Ohh ve ark., 2010).

Sonuç

Antimikrobiyal peptidlerin antibakteriyel etkileri yanında direnç oluşturma riskinin düşük olması ilginin gün geçtikçe artmasına yol açmaktadır. Antimikrobiyal peptidler sadece antimikrobiyal özelliklerinden dolayı değil aynı zamanda antifungal, antiviral, bağırsıklığı düzenleyici, bağırsak morfolojisini ve bağırsağın mikrobiyal yapısını iyileştirerek sindirimi artırıcı özelliklere sahip olması nedeniyle ayrı bir önem kazanmaktadır. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda antimikrobiyal peptidlerin etlik piliçlerin beslenmesinde antibiyotiklere alternatif olarak önemli bir aday olduğu görülmektedir. Antimikrobiyal peptidlerin etlik piliçlerin

rasyonlarında kullanımına yönelik çalışmalar sınırlı olmasına rağmen son yıllarda bu çalışmalarda artış olduğu göze çarpmaktadır. Antimikrobiyal peptidler arasındaki farklı etki mekanizmalarının tanınması konakçı üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu bağlamda önemli bir nokta da antimikrobiyal bir peptidin potansiyel toksisite koşullarında mikrobiyal ve konakçı hücreler arasında ayırım yapabilme derecesidir. Kanatlı hayvanların beslenmesinde antibiyotiklere alternatif olarak değişik antimikrobiyal peptidlerin farklı türevlerinin çeşitli dozları ile yeni araştırmalar yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

References

- Bao H, She R, Liu T, Zhang Y, Peng KS, Luo D, Yue Z, Ding Y, Hu Y, Liu W, Zhai L. 2009. Effects of pig antibacterial peptides on growth performance and intestine mucosal immune of broiler chickens. Poultry Science., 88: 291-297.
- Bradshaw JP. 2003. Cationic antimicrobial peptides. BioDrugs, 17(4): 233-240.
- Brogden KA. 2005. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol. 3: 238-250.
- Choi SC, Ingale SL, Kim JS, Park YK, Kwon IK, Chae BJ. 2013a. An antimicrobial peptide-A3: effects on growth performance, nutrient retention, intestinal and faecal microflora and intestinal morphology of broilers. British Poultry.Science., 54(6): 738-746.
- Choi SC, Ingale SL, Kim JS, Park YK, Kwon IK, Chae BJ. 2013b. Effects of dietary supplementation with an antimicrobial peptide-P5 on growth performance, nutrient retention, excreta and intestinal microflora and intestinal morphology of broilers. Animal Feed Sci and Technology. 185: 78-84.
- Demir E, Sarica Ş, Özcan MA, Suiçmez M. 2005. The use of natural feed additives as alternative to an antibiotic growth promoter in broiler diets. Arch Fur Gefluegelkd 69: 110-6.
- Duru İ, Saçaklı P. 2017. İmmun sistemin silahı: Antimikrobiyal peptidler-Bakteriyosinler. 4.Uluslararası Beyaz Et Kongresi Kongre Kitabı, 26-30 Nisan, 698-703, Antalya
- Hancock RE, Lehrer R. 1998. Cationic peptides: a new source of antibiotics. Trends in biotechnology, 16(2): 82-88.
- Hu F, Gao X, She R, Chen IJ, Mao J, Xiao P, Shi R. 2017. Effects of antimicrobial peptides on growth performance and small intestinal function in broilers under chronic heat stress. Poultry Science, 96: 798-806.
- Huang HW. 2000. Action of Antimicrobial Peptides: Two State Model. Biochemistry, 39 (29): 8347-8352.
- Jozefiak D, Sip A, Rawski M, Rutkowski A, Kaczmarek S, Hojberg O, Jensen BB, Engberg RM. 2011. Dietary divercin modifies gastrointestinal microbiota and improves growth performance in broiler chickens. British Poultry Science.52(4): 492-499.
- Jozefiak D, Sip A, Rutkowski A, Rawski MÇ, Kaczmarek S. Wołuń-Cholewa SM, Engberg RM, Hojberg O. 2012. Lyophilized Carnobacterium divergens AS7 bacteriocin preparation improves performance of broiler chickens challenged with Clostridium perfringens. Poultry Science 91: 1899-1907.
- Jozefiak A, Engberg RM, 2017. Insect proteins as a potential source of antimicrobial peptidesw in livestock production.A review. Journal of Animal and Feed Sciences, 26: 87-99.
- Keymanesh K, Soltani S, Sardari S. 2009. Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. World J Microbiol Biotechnol 25: 933-944.
- Li Y, Xiang Q, Zhang Q, Huang Y, Su Z. 2012. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: origins, functions, relative mechanisms and application. Peptides, 37(2): 207-215.

- Liu T, She R, Wang K, Bao H, Zhang Y, Luo D, Hu Y, Ding Y, Wang D, Peng K. 2008. Effects of Rabbit *Sacculus Rotundus* Antimicrobial Peptides (RSSP) on the Intestinal Mucosal Immunity in Chickens. *Poultry Science*, 87: 250-254.
- Maróti G, Kereszt A, Kondorosi E, Mergaert P. 2011. Natural roles of antimicrobial peptides in microbes, plants and animals. *Research in microbiology*, 162(4): 363-374.
- Nguyen LT, Haney EF, Vogel HJ. 2011. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends in Biotechnology*, 29 (9): 464-472.
- Ohh SH, Shinde PL, Choi JY, Jin Z, Hahn TW, Lim HT, Kim GY, Park YK, Hahm KS, Chae BJ. 2010. Effects of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. golden valley) protein on performance, nutrient metabolizability, and cecal microflora in broilers. *Archiv für Geflügelkunde*, 74 (1): 30-35.
- Özcan MA, 2016. Effects of Some Plant Extracts in Triticale-Based Broiler Diets on Growth Performance, E.Coli Counts in Intestine and Blood Parameters. *Animal Sci and Biotechnologies*, 49(2):16-22.
- Özcan MA, Fatih D, Şenol Y, Sezai A, 2016. Effects on the performance and some carcass parameters of addition of butyric acid and prebiotic in the quail rations. *J Anim Sci Adv*, 6(1):1532-1536. DOI: 10.5455/jasa.20151231080836.
- Powers JPS, Hancock RE. 2003. The relationship between peptide structure and antibacterial activity. *Peptides*, 24(11): 1681-1691.
- Ren ZH, Yuan W, Deng HD, Deng JL, Dan QX, Jin HT, Tian CL, Peng X, Liang Z, Gao S, Xu SH, Li G, Yu H. 2015. Effects of antibacterial peptide on cellular immunity in weaned piglets. *Journal Animal Science* 93: 127-134.
- Wan J, Li Y, Chen D, Yu B, Chen G, Zheng P, Mao X, Yu J, He J. 2016. Recombinant plectasin elicits similar improvement in the performance and intestinal mucosa growth and activity in weaned pigs as an antibiotic. *Animal Feed Science Technology*. 211: 216-226.
- Wang D, Ma W, She R, Sun Q, Liu Y, Hu Y, Liu L, Yang Y, Peng K. 2009. Effects of swine gut antimicrobial peptides (SGAMP) on the intestinal mucosal immunity in specific-pathogen-free chickens. *Poultry Science*, 88: 967-974.
- Wang S, Zeng XF, Wang QW, Zhu JL, Peng Q, Hou CL, Thacker P, Qiao SY. 2015. The antimicrobial peptide sublancin ameliorates necrotic enteritis induced by *Clostridium perfringens* in broilers. *Journal of Animal Science*, 93 (10): 4750-4760.
- Wang S, Xiangfang Z, Yang Q, Qiao S. 2016. Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *International Journal of molecular Sciences*, 17: 603-615. :(literatürde sayfalar arasındadır)
- Yıldırım T, Doğan B, Akan M, Diker KS. 2017. Tavuk kanından elde edilen peptidlerin *Salmonella* serotipleri üzerine etkileri. 4. Uluslararası Beyaz Et Kongresi Kongre Kitabı, 26-30 Nisan, 334-336, Antalya
- Yurong Y, Yibao J, Ruiping S, Qingqiang Y, Kaisong P, Huihui B, Decheng W, Tianlong L, Xuemei Z. 2006. Effects of chicken intestinal antimicrobial peptides on humoral immunity of chickens and antibody titres after vaccination with infectious bursal disease virus vaccine in chicken. *Archives of Animal Nutrition*, 60 (5): 427-435.