

# Vet Bio

dergipark.gov.tr/vetbio

Journal of Advances in VetBio Science and Techniques JAVST

ISSN: 2548 - 1150

## EDITORIAL ARCHIVE

### Editors-in-Chief

İlker CAMKERTEN, University of Aksaray

Hikmet ÜN, University of Aksaray

### Managing Editors

Caner ÖZTÜRK, University of Aksaray

Gaye BULUT, University of Aksaray

### Associate Editors

Suat DİKEL, University of Çukurova, *Fisheries*

Güzin CAMKERTEN, University of Aksaray, *Basic Sciences*

Kerem URAL, University of Adnan Menderes, *Clinical Sciences*

### Editorial Board Members

Zbigniew ADAMIAK, University of Warmia-Mazury, **Poland**

İbrahim AKIN, Language, University of Adnan Menderes, **Türkiye**

Mehmet AVCI, University of Harran, Şanlıurfa, **Türkiye**

Mehmet ÇABALAR, University of Harran-PreClinical Sciences, **Türkiye**

Hesham A. EL ENSHASY, Institute of Bioproduct Development (IBD),  
Universiti Teknologi Malaysia (UTM), **Malaysia**

Hasan ERDOĞAN, Statistics, University of Adnan Menderes, **Türkiye**

Mehmet GÜLTEKİN, Statistics, University of Adnan Menderes, **Türkiye**

Hilal KARAGÜL, University of Ankara, Ankara, **Türkiye**

**Pressed Date: April 2018**

**Copyright © 2018 JAVST**

Journal of Advances in VetBio Science and Techniques (JAVST) is aimed to serve as scientific research journal. JAVST is a triannual (April, August, and December), open access, and fully refereed international journal.

JAVST is to publish high quality scientific research articles on the subjects of Veterinary Medicine, Biological sciences and zoology. In addition, short communications and reports, case reports, letter to the editor and reviews are also accepted.

Publishing languages are Turkish and English. The editorial policy of the journal is based on independent, unbiased, and peer-review.

The JAVST welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

JAVST has been indexed by Academic Research Index (**Research Bib**), **Google Scholar**, Root Society for Indexing and Impact Factor Service (**Rootindexing**), Eurasian Scientific Journal Index (**ESJI**), **Cosmos** Impact Factor, Scientific Indexing Services (**SIS**), Directory of Open Access Scholarly Resources (**ROAD**), and **OpenAIRE** databases.

**Publisher**

İlker Camkerten

**Editorial Board Members**

**Muhammed KATICA**, University of Srajevo, **Bosnia&Herzegovina**

**Koycho KOEV**, University of Stara zagora, **Bulgaria**

**Halil SELCUKBİRİCİK**, University of Aksaray, **Türkiye**

**Tevhide SEL**, University of Ankara, **Türkiye**

**Przemysław SOBIECH**, University of Warmia-Mazury, **Poland**

**Ilia TSHACEV**, University of Stara zagora, **Bulgaria**

**Deniz ALIÇ URAL**, University of Adnan Menderes – Zootechnics, **Türkiye**

**Katarzyna ŻARCZYŃSKA**, University of Warmia-Mazury, **Poland**

**Layout, Page Design, Typesetting**

**Address**

Faruk KAHRAMAN

Abdurrahman LÜLECI

Fatih USTA

Managing address:

Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Adana Yolu 7. Km Merkez Kampüs 68100  
Aksaray/TÜRKİYE

e-mail: [ejavst@gmail.com](mailto:ejavst@gmail.com)

Web Page: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>

Tel: 05536203468

\*Sur-names are listed alphabetically



## CONTENTS

### Research Articles

In Trout Facilities Located In Keban Dam Lake (Elazig) the Used Medicaments, Vaccines and Their Activities That Investigation 1-10

**Ruhan Yanen, İbrahim Cengizler, Ruhay Aldık**

Yavru Gökkuşığı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'ndan *Lactococcus garvieae*'nin İzolasyonu ve Plazmit Profilleri Üzerine Bir Çalışma 11-22

**Jale Korun, Mehtap Kurtoğlu**

Aydın İlinde Yetiştirilen Siyah Alaca İneklerde Karşılaştırmalı Vücut Kondisyon Skoru İle NEFA Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması 23-34

**Deniz Alıç Ural, Songül Erdoğan**

Interpretation of Serum 25-Hydroxy Vitamin D3 Concentrations in Sheep with Naturally Occurring Sarcoptic Mange 35-40

**Kerem Ural, Recai Tunca, Deniz Alıç Ural, İlker Camkerten, Hasan Erdoğan, Adnan Ayan, Mehmet Gültekin, Ali Evren Haydardedeoğlu, Nuran Aysul, Songül Erdoğan**

### Case Reports

Feather Loss in a Budgie 41-43

**Arif Kurtdede, Mehmet Kazım Börkür, Nevra Keskin, Nurdan Karacan**

Bir Köpekte Eroziv Ülseratif Stomatitis: Çam Kesesi Böceği Toksikasyonu 44-49

**Hasan Erdoğan, Yasin Parlatır**

Dergide yayımlanan makalelerin yazar kurum bilgilerinde OHAL nedeniyle değişiklikler oluşmuş olabilir. Bu değişiklikler nedeniyle oluşabilecek her türlü sorumluluk yazar(lar)ın kendisine ait olup, yayıncı herhangi bir sorumluluk kabul etmemektedir.

## Determination of the effectiveness of the Medicaments and Vaccines used in Local Trout Farms in Keban Dam Lake (Elazığ)

### Abstract

In the present study, a survey on the determination of the effectiveness of the medicaments and vaccines used to treat and prevent the common diseases of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in 39 fish farms at Keban Dam Lake, one of the most important region for aquaculture in Elazığ (Turkey), was conducted by obtaining the necessary records in retrospective questioning.

TUKEY and ANOVA tests were used to analyze the data collected, and the results were evaluated statistically to be able to reveal the relation between the disease agents (pathogens) and the disease treatment/prevention methods used. No significant difference was found between the pathogens and the disease treatment/prevention methods ( $p>0,05$ ) whereas significant differences were found between the pathogens and pharmaceutical efficiency ( $p<0.01$ ). Significant differences were also observed between the annual production and the years (Jan.2015-Jan.2016) ( $p<0.01$ ). Similarly, no significant difference ( $p>0.05$ ) found between the number of staff working in farms, pathogens and prevention methods. It is also found that there is no significant difference between the production capacity and the workers ( $p>0.01$ ). Interviews with the companies applying vaccines, it is learned that vaccination is more preferred, and the vaccines that applied cause pre-protection and detected that this pre-protection reduce application of antibacterial medicines.

**Key Words:** *Oncorhynchus mykiss*, Keban Dam Lake, Vaccine, Trout

### Research Article

Ruhan Yanen<sup>1</sup>

İbrahim Cengizler<sup>1</sup>

Ruhay ALDIK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Fisheries,  
Aquaculture and Fish Diseases  
Department, Cukurova  
University

### Correspondence

İbrahim CENGİZLER

ibrcengizler@gmail.com

### Article Info

Received: 04-02-2018

Accepted: 06-04-2018

## Introduction

Aquaculture based on quite ancient times. Aquaculture was first established in China in the 2000s BC, then spread from Asia to Europe (Koç, 2007). It is known that for the first time in the 1960s and 1970s, freshwater aquaculture began with trout and salmon breeding in Denmark and other European countries. It is pointed out that aquaculture began in the 1970s and the first produced fish was the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey (Demir, 1992; Tekelioğlu, 2000). After the first fish production in the sector was established in Sakarya-Akyazı as a private sector enterprise, state-owned farms, which are public enterprises became active. Turkey, with an average of 1786 km long 33 streams, has an area of more than 26 million hectares of total aquaculture production and has a larger size in forest areas, close to existing agricultural areas (Anonymous, 2010). Fish is an excellent food and a source of high quality protein for people. Contributions to human nutrition of aquatic products are important for the country's economy due to employment creation, industrial raw material disposal and high export potential (Alpaz and Hoşsucu, 1996).

Significant advance have been recorded in terms of aquaculture in Turkey. Rainbow trout is the first order among cultivated species. The amount of annual production of trout was 36,827 tons in 2001, reached 122,873 tons in 2013 (Anonymous, 2013).

With the spread of cage systems, the amount of trout production was 10 tons in 1996, reached approximately to 32,115 tons with 160 fish farms registered in Keban as of 2014. Elazığ, which took the 59th order among the 60 cities that cultivated trout in Turkey in 1996, received the first order with the production amount approaching 32.155 tons in 2014. This amount of

production covers 60% of our country's annual trout farming (Anonymous, 2013; Güner, 2015).

As a matter of fact, the main cause of the biggest crop loss in these enterprises is the disease factors. Disease agents must be used to eliminate some substances are present, but is given to medicaments name. Antibiotics, antifungals, antifungals and some disinfectants (iodophors, sodium hydroxide, formaldehyde, calcium cyanomide, chlorine, ozone, salt, copper sulphate, lime, etc.) are the main medicaments (Al-Dughaym, 2000; Cengizler, 2000).

When the factors causing the diseases observed in the enterprises that grow trout are examined, these diseases are mostly; *Yersinia ruckeri*, motil aeromonas, *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garviae*, *Costia* spp, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Hexamita* spp., *Myxosomat* spp, Viral haemorrhagic septicemia viruses are caused by different researchers (Buchanan and Gibbons, 1974; Erer, 1981; Samuel et al., 1996; Cipriano, 2001; İspir et al., 2004; Sommerset et al., 2005)

Vaccines are biological products that are used in the treatment and protection of dead or weakened microorganisms (bacteria or viruses) and infectious diseases. The most effective method of protection from diseases; Taking hygienic precautions, not putting patients and porter into operation, and vaccinating fish with active immunization (Meyer and Scnick, 1989, Katircioğlu and Beyathı, 2003; Lorenzen and Lapatra, 2005). Vaccination methods applied in fish shows some differences from other land animals (Post, 1987). Vaccinations in fish; Injection, spraying, immersion, bath, hyperosmotic infiltration and anal intubation. These are the inoculations of the vaccine through the

most effective injection route. Currently commercially in immersion vaccination method of prevention of bacterial diseases or bath method it is preferred (Kaper et al., 1981; Cengizler, 2000). It is known that the experiment of passive immunization in trout only delayed deaths and did not provide complete protection (Lavelle et al., 1997). However, passive immunization against *Aeromonas salmonicida* and *Vibrio anguillarum* resulted in very good results (Colwell et al., 1986; Ellis, 1988; Gado, 1998; Yambot, 1998). There are still studies to develop commercial vaccines against fish viruses and parasites. Experimental vaccines against IPN virus have been developed from viral diseases (Altun and Diler, 1996). Positive results have been obtained from vaccinations against viruses. Experimental vaccination against parasitic diseases of *Ichthyophthirius multifiliis* has been carried out (Austin and Austin, 1993; Rombout and Joosten, 1997).

In the present study, medicaments' and vaccines' that use for applied treatment method against common diseases at 39 rainbow trout farms at Keban Dam Lake, one of the most important fisheries area for our country, made by taking necessary records retro perspective questioning made, the efficacy of the vaccines and medicaments was investigated.

Thus, health management of sustainable fishing activities in the fisheries sector, and effective use of risk treatment methods investigated were compared efficiency values. The producers will be tried to be made conscious with the suggestions to be made. Treatment methods and the investigation of the effectiveness of these modalities are important for the prevention of disease agents occurring in enterprises. The aim of this research is to provide the bases for the future applications of the enterprises.

## Material and Methods

The research was carried out between January 2015 and January 2016 for one year with fish farms once a month. The main material of the study; Surveys carried out face to face with 39 farmers in the Keban District of Elazığ Province, which produced trout farms, and as a result of these studies, they constitute the primary quality data obtained. The farms that are visited and collected within the scope of the study are located on the Keban Dam Lake (Elazığ) in about 50 km distance from the water source. There are 76 fish farms around Keban Dam Lake (Elazığ) and on Euphrates River. Their total annual production is 15 thousand tons.

Current vaccines against fish diseases are still in the developmental stage. Commercial vaccines have been developed with *Yersinia ruckeri*, *Vibrio anguillarum*, *Pasteurella piscicida* and *Aeromonas salmonicida* bacteria (Kanai and Wakabayashi, 1984; Türk, 2010; Şeker et al., 2011). *Vibriosis*, *yersiniosis*, *franculosis* and *pasteurelosis* vaccines are widely used commercially (Austin and Austin, 1993; Kumar and Sierp, 2003; Joh et al., 2010).

In this study, information about the medicines and vaccines used against the fish diseases seen in the farms which are engaged in trout farming in Elazığ - Keban Dam Lake were collected. The aim is to establish a basis for protection, control and treatment activities against trout diseases that may occur in aquaculture in the coming years. Suggestions will be made to the persons and institutions in the sector about the results of medicine application and vaccination.

For the research, the enterprises related to the trout farming registered in the Provincial Directorates of Agriculture in Elazığ - Keban Region were determined and visited to these farms at certain time intervals.

The fishery enterprises have been investigated and recorded beforehand whether they are sicknesses, the health conditions of the employer, whether they use medicines and vaccines.

Within the scope of this research, it was discussed with farm owners, fishery engineers or staff responsible for medicine and vaccine application and it was researched how many medicines and other medicaments used in the received data provide benefits to the enterprises and in this direction an attempt was made to remove the disease map of the aquaculture areas in Keban Dam Lake.

The data obtained in the study were subjected to One Way Analysis of Variance (ANOVA). In the event of significant difference in analysis results of the Tukey's test was applied multiple comparison test.

**Results**

Within the scope of the research; 39 farms on the Elazığ Keban Dam were visited and a survey was conducted under the name of "Farm Survey" given in Appendix 1 results obtained are as follows. Approximate values taken when examined in terms of diseases; Of the 39 fish farms, 2 had columnaris, 14 had yersiniosis, 10'side vibriosis and 13 had saprolegniasis diseases. The test result to determine the relationship between medicine efficacy and disease agents is given in Table 1.

**Table 1. The relationship between medicine efficacy and disease factors in the Anova Test**

		Sum of squares	SD	Squares average	F
Measures	Between Groups	16,417	4	4,104	
	Inside Groups	261,183	35	7,462	,550
	Total	277,600	39		
Medicine Efficiency	Between Groups	13,925	4	3,481	
	Inside Groups	65,675	35	1,876	1,855
	Total	79,600	39		
Production capacity	Between Groups	6,456	4	1,614	
	Inside Groups	155,444	35	4,441	,363
	Total	161,900	39		
Disease factors	Between Groups	107,737	4	26,934	
	Inside Groups	162,238	35	4,635	5,811
	Total	269,975	39		

As seen in Table 4.1, there was a significant difference (p <0.01) as a result of the ANOVA test between medicine efficacy and disease agents. This has shown us that medicine efficacy is effective against disease

agents. According to the information obtained from the questions asked by the responsible engineers working in the company, it is learned that the medicines they use are effective in eliminating the disease factors.



**Table 2. Production capacity by years**

Production capacity	Sum of squares	SD	Squares average	F
Between Groups	141,881	3	47,294	
Inside Groups	20,019	36	,556	85,050***
Total	161,900	39		

\*\*\* p<0.001

Comparing the production capacity of enterprises with the operating years shows a significant difference between the enterprises with 16-20 years and other enterprises (p<0.001).

**Table 3. Comparison of production capacity and operating year compared to the TUKEY test**

	(I) Farm Year	(J) Farm Year	Average Difference (I-J)	Std. Error	Squares average	P	95% Confidence Interval	
							Upper Bound	Lower Bound
Tukey	0-5	6-10	-,57407	,33656	4,104	,336	-1,4805	,3324
		11-15	,25926	,54647	7,462	,964	-1,2125	1,7310
		16-20	-5,74074(*)	,36306		,000	-6,7185	-4,7630
	6-10	0-5	,57407	,33656	3,481	,336	-,3324	1,4805
		11-15	,83333	,60886	1,876	,527	-,8065	2,4731
		16-20	-5,16667(*)	,45154		,000	-6,3828	-3,9506
	11-15	0-5	-,25926	,54647	1,614	,964	-1,7310	1,2125
		6-10	-,83333	,60886	4,441	,527	-2,4731	,8065
		16-20	-6,00000(*)	,62390		,000	-7,6803	-4,3197
	16-20	0-5	5,74074(*)	,36306	26,934	,000	4,7630	6,7185
		6-10	5,16667(*)	,45154	4,635	,000	3,9506	6,3828
		11-15	6,00000(*)	,62390		,000	4,3197	7,6803

The results of the ANOVA test based on years of production capacity showed a significant difference between the years (p<0.01). As a result of the ANOVA and TUKEY test statistics, it has been shown that the production capacity will also increase due to reasons such as experience and staffing in the multi-year enterprises. The result of the Anova Test, which is one

of the measures taken for the disease factors, is given in Table 4.

**Table 4. Measures against disease factors**

	Sum of squares	SD	Squares average	F
Between Groups	36,552	3	12,184	
Inside Groups	241,048	36	6,696	1,820
Total	277,600	39		

As a result of analysis of variance between the factors of the disease and the measures taken, there was no significant difference ( $p > 0.05$ ). This has shown that the measures taken (such as vaccination, disinfectant use, medicine application, increase in the number of staff, increase in number, quarantine) are not effective

enough to cause and spread disease agents. Number of engineers employed - number of disease agents and number of engineers employed - ANOVA test performed between the measures taken is given in Table 5.

**Table 5. Variance analysis of the number of engineers working and the precautions taken**

		Sum of squares	SD	Squares average	F
Diseases Agents	Between Groups	35,262	3	11,754	
	Inside Groups	234,713	36	6,520	1,803
	Total	269,975	39		
Measures	Between Groups	16,393	3	5,464	
	Inside Groups	261,207	36	7,256	,753
	Total	277,600	39		

There was no statistical difference in the number of engineers working on this chart - the number of engineers and disease agents ( $p > 0.05$ ). The result of

the analysis of variance between the number of employees and production capacity is given in Table 6.

**Table 6. Variance analysis between production capacity and the number of employees working**

	Sum of squares	SD	Squares average	F
Between Groups	21,418	4	5,354	
Inside Groups	31,357	35	,896	5,977**
Total	52,775	39		

Table 6 When examined, there was a statistical difference between the production capacity and the number of personnel employed. As the number of

qualified employees increases in the enterprises, conscious and correct applications will be realized, which will lead to positive increases in the production

capacity of the enterprises. So there is a direct correlation between the numbers of the staff employed

## Discussion

From 39 farms in the middle of Keban Dam Lake and in the farms near the source, tetracycline, sulphanomide group antibacterial medicines and vibriosis and yersiniosis vaccines were applied in yersiniosis treatment. These practices provide a chance to protect from farm diseases or to treat illnesses within a certain period of time. However, it has not been possible to completely eliminate these diseases from the farms located at Keban Dam Lake. This is most likely due to contamination of farms in other areas of the source due to a number of reasons, such as the use of drainage waters from untreated drainage wastewater, and the use of rinsing water from the same source. In addition, misuse or frequent use of the chemicals used will cause the disease agents to gain resistance to these substances, thereby reducing the effectiveness of the chemicals.

It has encountered bacteria species such as *Yersinia ruckeri*, *Pseudomonas* sp. and *Flavobacterium* sp. in a trout. The data obtained in our study indicate that vibriosis, yersiniosis, saprolegniasis and columnaris disease factors are encountered throughout the enterprises (Kılıç et al., 2007).

A bacterial hemorrhagic septicemia disease was detected in trout (*Salmo gairdneri irideus*) in Çifteler-Sakaryabasi Fish Production and Research Station, and *Aeromonas hydrophila* was determined as a disease effect. In our study, no data on motil aeromonas septicemia were found in the 39 operations operated in the information field (Baran et al., 1981).

In study of rainbow trout; they reported that they found symptoms such as darkening of color, wilting in the gills, swelling and grayish color in the kidney, wilting

by production capacity.

in the liver and swelling in the spleen, increase in pigmentation, exophthalmos, swelling in the stomach and wilting in the gills. In the survey study conducted with engineers under this research, it was observed that these types of clinical symptoms were also taken into consideration (Austin, 1992; Bruno, 1992).

When the previous studies are examined, it is no doubt that the causes and consequences of this situation will affect the farm situation better by raising the awareness of the farm owners, conscious and responsible personnel and the fishery engineers. The results from the studies show that, compared with the information obtained from farms, it is an important factor in preventing diseases in general, with similarities.

In our study more import manufacturers of vaccines has been shown they prefer. When previous studies were examined, it was observed that the fish diseases were more observed in freshwater fish trout cultivation areas and various medicaments were utilized in elimination of these diseases (Cengizler, 2000; Ekici, 2010; Wiens et al., 2013).

In addition, vaccination in these areas has become a frequently used method of treatment to prevent diseases, and the fact that the application and the material used are financially expensive has led farming management to focus on protection and control. Furthermore, the information provided by the engineers showed that the control of diseases was prevented from being carried to other farms at the source farms in the light of the information. Although vaccination is regarded as the most important application in the treatment, it is understood as a result of the inquiry that we have made that antibacterial medicines and

disinfectants are more frequently used in regional farms due to financial difficulties and application difficulties.

Detect bacterial disease agents that cause economic losses in the study morphological and biochemical tests were carried out and *Aeromonas salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri* such as were encountered in bacterial species whereas all of enrofloxacin of disease factors, florfenicol and were found to susceptible to ciprofloxacin and to be resistant to amoxicillin, ampicillin, simplexin, erythromycin, fusidic acid, gentamycin, chloramphenicol, lincomycin, nalidixic acid, neomycin, novobiosin, oxytetracycline, cefoxitin and sulfamethoxazole-trimethoprim (Akşit and Kum, 2008).

In the information we have received in the course of the work we have done, we have been informed that medicine administration has been done before these kinds of operations have been done in determining the disease state in the enterprises. Gentamycin, streptomycin, neomycin, sulfamethoxol-trimethoprim, oxytetracycline, amoxicillin / clavulic acid, clindamycin, erythromycin, penicillin and vancomycin antibacterial medicines were used in the operations. When engineers were asked how these antibacterial medicines were intended to be healed, they were reported to have a positive effect on the treatment.

However, antibiotics and other serological methods were not applied before medicine administration in these enterprises. If antibiogram work to be done by the pathogen, unnecessary or appropriate medicine use will be minimized (Midlyng, 1997; Cengizler, 2000). This may be possible, for example, by employing staff trained in fish diseases, or by providing a variety of training to fishery engineers working in the area.

It has found that uncontrolled use of chemicals, vaccines, and antibacterial medicines used in fish farming in the course of a study, provided resistance to disease resistance and negatively impacted sustainable fisheries. According to the information provided by the companies using the vaccine, vaccination is more effective than medicine administration (Midlyng, 1997).

They have compared the efficacy of vaccination methods by preparing an experimental vaccine against vibriosis seen in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in his study. As a result of the research, injection vaccination provided high protection. In our work, we have been informed about vaccination against vibriosis and yersiniosis and successful protection by oral administration and injection method (Ekici, 2010).

It has been learned that 15 of the interviewed enterprises have been vaccinated. The vaccines are applied in the majority of the farms by injection and oral route. Imported vaccines are vaccines which use is preferred because of better activity than the native vaccine. It has been found that it creates an important frontal protection to fish health and reduces the use of antibacterial medicines.

Discussions with the responsible engineers of the farms emphasized the importance of using disinfectants and information on the applications they have been made about it is stated that the use of disinfectants has the lowest risk of passing disease fish from patient fish to healthy fish in other pools or to another operation. It is stated that all of the farms under investigation are given importance to the use of disinfectants. In conclusion, this study suggests that increasing knowledge and skills in the area of cultivation and increasing the use of vaccines and preparation of vaccines with native strains.

## References

- Akşit, D., Kum, C. (2008).** Gökkuşığı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi. *YYÜ VET FAK DERG.*(2008) 19(1): 1-7.
- Al-Dughaym, A.M. (2000).** Recovery and Antibiogram Studies of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens* from naturally and Experimentally Infected Tilapia Fishes. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 3(12): 2185-2187.
- Alpaz, A., Hoşsucu, H. (1996).** İç Su Balıkları Yetiştiriciliği, (2. Baskı). Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 12.
- Altun, S., Diler, Ö. (1996).** Akuatik Mikrobiyoloji Uygulamaları, Akuatik Bakteri Ve Mantar Gruplarının Teşhisi Yöntemleri. D.Ü. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Eğirdir 1996.
- Austin, B., Austin, D.A. (1993).** Vibriosis. Bacterial Fish Pathogens And Disease In Farmed Wild Fish. Chapter 13, Ellis Harwood Ltd...England 263-287.
- Anonymous (2010).** Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara. <http://www.dsi.gov.tr/topraksu.htm>
- Anonymous (2013).** Su Ürünleri İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu. ISBN 978-975-19-6242-3.
- Austin, B. (1992).** "The Recovery of *Cytophaga psychrophila* from Two CASES of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Fry Sendrome in The U. K.", *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 12(6):207-208.
- Baran, İ., Timur, M., Aydın, N., İstanbuloğlu, E., Aydınтуğ, M.K. (1981).** Çifteler-Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonunda, Alabalıklarda (*Salmo gairdneri* irideus) Görülen Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığı Üzerinde İncelemeler. A.Ü. Veteriner Fakültesi Su Ürünleri ve Hastalıkları Kürsüsü.
- Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. (1974).** *Aeromonas hydrophila* In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed., the Williams and Wilkins Company, Baltimore, 345-348s.
- Bruno, D. W. (1992).** "Cytophaga psychrophila, (*Flexibacter psychrophilus*) (Borg), Histopathology Associated with Mortalities Among Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum) in the UK ", *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 12(6):215-216, (1992).
- Cengizler, I. (2000).** Balık Hastalıkları Ders Kitabı. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınlan, Yayın No:7 Adana, 117s.
- Cipriano, R.C. (2001).** *Aeromonas hydrophila* And *Aeromonas* Septicemias of Fish. Erişim: [[http://w3.kunsan.ac.kr/~psw/technote/main.cgi/aeromonas.pdf?down\\_num=1093572320&board=pds&command=down\\_load&d=&filename=aeromonas.pdf](http://w3.kunsan.ac.kr/~psw/technote/main.cgi/aeromonas.pdf?down_num=1093572320&board=pds&command=down_load&d=&filename=aeromonas.pdf)]. Erişim Tarihi: 11.07.2006.
- Colwell, R.R., MacDonell, R.R., De Ley, J. (1986).** Proposal to Recognise the Family *Aeromonadaceae* Fam. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36:473-477.
- Demir, N. (1992).** İhtiyoloji. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul.
- Ellis, A. E. (1988).** Current aspects of fish Vaccination. *Diseases of Aquatic Organisms Vol. 4:* 159-164.
- Ekcici, S. (2010).** Gökkuşığı Alabalığı'nda (*Oncorhynchus mykiss*) Vibriosis'e Karşı Aşı Uygulanmasının Bağışıklık Sistemine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2010, 108s.
- Erer, H. (1981).** Aynalı Sazanlarda (*Cyprinus carpio* L.) Deneysel *Aeromonas hydrophila* Enfeksiyonunda (Bakteriyel Hemorajik Septisemi) Oluşan Patolojik Bulguların İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi.
- Gado, M.S.M. (1998).** Studies on the Virulence of *Aeromonas hydrophila* In Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Assiut Vet. Med. J.* 40: 190-200.
- Güner, B. (2015).** Keban Baraj Gölü'nde Kültür Balıkçılığı. Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, Cilt: 25, Sayı:1, Sayfa: 1-8, Elazığ.
- İspir, Ü. Şeker, E., Sağlam, N., Dörücü, M., (2004).** Doğu Anadolu Bölgesinde Bazı Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinde Görülen *Flavobacterium psychrophilum* Enfeksiyonunun Araştırılması. Fırat Üniversitesi. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16 (4), 718-724. (2004).



- Joh, S., Kweon, J., Kim, C.H., Kong, M.J., Jang, M.S. H., Kwon, J.H. (2010).** Characterization of *Yersinia ruckeri* Isolated from The Farm-Cultured Eel *Anguilla japonica* in The Kore. *Korean J Vet Res* (2010) 50 (1) : 29~35.
- Kanai, K., Wakabayashi, H. (1984).** Purification and Some Properties of Protease from *Aeromonas hydrophila*. *B Jap Sco Sci Fish*, 50:1367-1374.
- Kaper, J.B., Lochman, H., Colwell, R.R., Joseph, S.W. (1981).** *Aeromonas hydrophila*. Ecology and Toxigenicity of Isolates from an Estuary. *Journal of Applied Bacteriology*, 50:359-377.
- Katircioğlu, H., Beyatlı, Y., (2003).** Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) ve Aynalı Sazandan (*C. carpio* Linnaeus, 1758) İzole edilen laktik asit Bakterilerinin genel inhibisyon ve bakteriosin ve /veya bakterosin madde üretimi açısından incelenmesi. *GIDA* (2003) 28(6) :589-594.
- Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M., İspir, Ü. (2007).** Elazığ'daki Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*) İşletmelerinin Bakteriyel Yönden İncelenmesi. *Fırat Üniv. Fen Ve Müh. Bil. Dergisi* 19 (2), 129-132, 2007.
- Koç, B. (2007).** Sivas İli Alabalık İşletmelerinin Durumu, Sorunları ve Çözüm Önerileri. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 2007, 54s.
- Lavelle, E.C., Jenkins, P.G., Harris, J.E. (1997).** Oral Immunization of Rainbow Trout With Antigen Microencapsulated In Poly (DL – Lactide – Co – Glycolide) Microparticles. *Vaccine* 15, 1070 – 1078.
- Kumar, M.S., Sierp, M. (2003).** Integrated Wastewater Treatment and Aquaculture Production A Report for The Rural Industries Research and Development Corporation. *Rirdc Publication No: 03/026. Rirdc Project No: Sar-16a.*
- Lorenzen, N., Lapatra, S.E. (2005).** DNA vaccines for aquacultured fish, *Rev. sci.tech.off.int. Epiz.*, 2005, 24(1), 201-213.
- Meyer, F.P., Scnick, R.A. (1989).** A Review Of Chemicals Used For The Control Of Fish Diseases. *Reviews In Aquatic Sciences*, 1 (4) : 693-710.
- Midtlyng, P.J. (1997).** Vaccinated fish welfare: protection versus side-effects. *Fish Vaccinology. Dev. Biol. Stand. Karger*. 90, 371-379.
- Post, G. (1987).** Textbook of Fish Health. Revised and Expanded Edition. T.F.H. Publications, 30/47: 73–74.
- Rombout, J.H.W.M., Joosten, E.H.M. (1997).** Mucosal Immunity and Oral vaccination Of Fish. *Cell Biology & Immunology Group, Wageningen Agricultural University*. 1 – 4.
- Samuel, M., Lam, T.J., Sin, J.M. (1996).** Effect of Laminaran on The Protective Immunity of Blue Grouper, *Trichogaster trichopterus* Against *Aeromonas hydrophila* of Shellfish *Immunol.* 6 (6): 443-454.
- Sommerset, I., Krossøy, B., Biering, E., Frost, P. (2005).** Vaccines for fish in aquaculture. *Expert Rev. Vaccines* 4(1), 89-101.
- Şeker, E., Karahan, M., Sarıyüpoğlu, M., Çetinkaya, B. (2011).** Detection of *Yersinia ruckeri* By Polymerase Chain Reaction (Pcr) In Infected Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792). *The Journal Of Animal & Plant Sciences* 21(3): Page: 570-574 Issn: 1078- 7081.
- Tekelioğlu, N. (2000).** İç su balıkları yetiştiriciliği. Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları. Yayın No: 2, Adana.
- Türk, N. (2010).** Balıklarda Aşı Uygulaması Ve Aşılamanın Faydaları *Veteriner Araştırma Enstitüsü Dergisi* No.7.
- Yambot, V.A. (1998).** Isolation of *Aeromonas hydrophila* From *Oreochromis niloticus* During Fish Diseases Outbreaks In The Philippines. *Asian Fisheries Science* 10 (1998): 347-354, Malina Philippines.
- Wiens, G.D., LaParta, S.E., Welch, T.J., Evenhuis, J.P., Rexroad, C.E., Leeds, T.D. (2013).** On-farm performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selectively bred for resistance to bacterial cold water disease: Effect of rearing environment on survival phenotype. *Aquacult.* 2013, 388(391):128–136.

# Yavru Gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'ndan *Lactococcus garvieae*'nin İzolasyonu ve Plazmit Profilleri Üzerine Bir Çalışma

A Study on Plasmid Profiles and Isolation of *Lactococcus garvieae* from the Young Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.)

## Özet

Bu çalışmada Fethiye bölgesindeki bazı gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerindeki hasta yavru balıklardan *Lactococcus garvieae* suşları izole ve tanımlanmıştır. Hasta balıklarda durgunluk, iştahsızlık, gözlerde ekzoftalmi ve hemoraji, abdominal kısımda şişkinlik gözlenmiştir. İç bulgu olarak karaciğerde hemoraji, dalakta büyüme (splenomegali) ve karın boşluğunda asidik sıvı birikimi tespit edilmiştir. *Lactococcus garvieae* suşları ampisilin, eritromisin, kloramfenikol, sülfametoksazol, oksitetrasiklin, tetrasiklin ve trimetoprim'e duyarlılık, basitrasin, flumequin, furazolidon, kanamisin, nalidiksik asit, oksalidik asit ve streptomisin'e direnç göstermiştir. Plazmit analiz sonuçlarına göre, suşların farklı boyutlarda plazmitleri içerdikleri bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Gökkuşığı alabalığı, *Lactococcus garvieae*, antimikrobiyal, plazmit

## Abstract

In this study, *Lactococcus garvieae* strains were isolated and identified from sick young fish from some rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Fethiye region. Lethargy, anorexia, exophthalmi with hemorrhage and abdominal dropsy in the sick fish were observed. Hemorrhage in the liver, enlargement of the spleen (splenomegaly) and ascites as internal signs were determined. The strains showed sensitivity to ampicillin, erythromycin, chloramphenicol, sulfamethoxazole, oxytetracycline, tetracycline and trimethoprim and resistant to basitrasin, flumequine, furazolidone, kanamycin, nalidixic acid, oxalidic acid and streptomycin. It was found that the strains harboured plasmids with different sizes according to the results of plasmid analysis results.

**Key Words:** Rainbow trout, *Lactococcus garvieae*, antimicrobial, plasmid

## Araştırma Makalesi

Mehtap Kurtoğlu<sup>1</sup>

Jale Korun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Avcılar İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Avcılar, İstanbul

<sup>2</sup> Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü Hastalıklar Anabilim Dalı Akdeniz Üniversitesi

## İletişim (Correspondence)

Jale KORUN

jalekorun@akdeniz.edu.tr

*Makale Bilgisi*

Geliş: 04-03-2018

Kabul: 26-03-2018

## Giriş

Laktokokkozis gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğini etkileyen önemli bulaşıcı hastalıklar arasında yer alır. Hastalık ilk kez 1990'lı yılların başlarında İspanya da görülmüş, daha sonra ise Portekiz, Fransa, Türkiye, Yunanistan ve Bulgaristan dahil olmak üzere Avrupa'nın çeşitli bölgelerine hızlı bir şekilde yayılım göstermiştir (Savvidis vd., 2007). Ülkemizde ise kok enfeksiyonları ilk kez 1997 yılında Çağırğan ve Tanrıkul tarafından bildirilmiş olup, sonraki yıllarda ise hastalık epizootikler oluşturarak, gökkuşağı alabalığı işletmelerinden bildirilmiştir (Çağırğan ve Tanrıkul, 1997; Diler vd., 2002; Altun vd., 2004). Günümüzde ise hastalık etkeni *Lactococcus garvieae* ile doğal olarak enfekte gökkuşağı alabalıklarına dair raporlar giderek artmaktadır (Avcı vd., 2010; Didinen vd., 2014). *L. garvieae* önceleri Streptococcaceae familyasında yer alan Streptococcus cinsine dahil edilmiştir. Ancak daha sonraları DNA-ribozomal RNA melezleme ve rRNA sekanslama çalışmalarına göre, tür *Lactococcus* cinsine dahil edilerek yeniden sınıflandırılmıştır (Shin vd., 2006). *L. garvieae* bugüne kadar japon yılan balığı (*Anguilla japonica*), pisi (*Paralichthys olivaceus*), kefal (*Mugil cephalus*), gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) ve sarı kuyruk (*Seriola quinqueradiata*) dahil olmak üzere birçok deniz ve tatlı su balık türlerinden izole edilmiştir (Meyburgh vd., 2017). *L. garvieae* hareketsiz, fakültatif anaerobik, Gram-pozitif, katalaz ve sitokrom oksidaz negatif, 0.7-0.4 µm büyüklüğünde kısa zincir oluşturan oval-kok şekilli bir bakteri türüdür. Bakterinin 10-45 °C de % 6.5 NaCl konsantrasyonunda ve pH'm 4.5-9.6 olduğu optimal koşullarda ürediği ve koloni oluşturduğu bildirilmiştir (Kitao,1993). Yetersiz su kalitesi ve yüksek su sıcaklığı gibi çevresel koşullar, balıkların *L. garvieae* enfeksiyonlarına olan hassasiyetlerinin artmasına neden olmaktadır. Laktokokkozis hiperakut hemorajik septiseminin

gelişmesi ile karakterize edilir. Hastalıkta gözlenen başlıca klinik bulgular; hızlı ve genel iştahsızlık, melenozis, durgunluk, denge kaybı ve düzensiz yüzme, ekzoftalmi (tek ya da çift taraflı), periorbital ve intraoküler bölgede, yüzgeçlerin taban kısmında, perianal bölgede ve operkulum yüzeyinde hemorajilerdir (Vendrell vd., 2006; Fukushima vd., 2017). Ayrıca, etkilenmiş balıklarda karın kısmında şişkinlik ve anal prolapsus da görülür. Nekropside peritoneal boşlukta asidik sıvı birikimi vardır (Vendrell vd., 2006). Gökkuşağı alabalıklarında lactococcosis enfeksiyonu kontrolünde en yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin amoksisilin, eritromisin, oksitetrasiklin ve düşük düzeyde doksisisilin olduğu bildirilmiştir (Vendrell vd., 2006). Ülkemizde 2002 yılından bu yana lactococcosis enfeksiyonu etkeni olan *L. garvieae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları araştırılmış ve in vitro koşullarda suşların amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, doksisisiklin, enrofloksasin, eritromisin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, pristinamisin, sefalotin ve tetrasiklin'e duyarlı oldukları, apramisin, flumekuoin, gentamisin, kanamisin, linkomisin, oksasilin, oksolinik asit, penisilin, streptomisin ve sulfametizol'e ise direnç gösterdikleri bildirilmiştir (Kubilay vd., 2005; Kav ve Erganiş, 2008; Öztürk vd., 2009; Türe ve Alp, 2016).

Bakteriyel hastalıkları kontrol etmek amacıyla enfekte balıkları antibiyotik ilaveli yemlerle beslemek genel bir uygulamadır. Bununla birlikte, bu uygulama hasta balıkların yemi almama durumlarında etkisiz olabilmektedir. Ayrıca, antimikrobiyal ajanların sık kullanımı patojenlerde antimikrobiyal maddelere karşı direnç gelişimine neden olmaktadır. Bu durum, antibiyotik dirençli bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisini güçleştirmektedir (Pridgeon ve Klesius, 2012). Kemoterapötik uygulamaların dirençli streptokokkal balık patojenlerinin ortaya çıkmasına

neden olduğu bildirilmiştir (Meyburg vd., 2017). 1 izolatta birden fazla kemoterapötik ajan direncinin varlığını ima eden çoklu dirençle sıklıkla karşılaşmaktadır. Bakteri popülasyonlarında antibiyotik direnç genlerinin yayılması, yatay gen transferinin çeşitli mekanizmaları tarafından desteklenmektedir. Plazmit aracılı transferin Streptokok türü olan balık patojenlerinde yaygın bir şekilde bildirilmiştir (Meyburg vd., 2017). Japonya da kültür sarı kuyruk (*S. quinqueradiata*) balıklarından izole edilen streptokok izolatlarında direnç ilk kez tanımlanarak, iki kategoriye ayrılmıştır. Bu kategorilerden ilki suşların makrolidler, linkomisin ve tetrasiklin'e orta düzeyde direnç gösterdikleri ve direnç genlerinin aktarılamaz özellikte ve yapısal olarak ifade edildiği kategori ve diğeri ise suşların makrolidler, linkomisin ve ya tetrasiklin'e ya da kloramfenikol'e yüksek direnç gösterdikleri ve aktarılabılır özellikte olduğu kategoridir (Meyburg vd., 2017). Aoki vd. (1990) antibiyotik direnci belirleyicilerinin, dirençli plazmitler veya transpozonların üzerinde bulunduğunu tahmin etmiştir. Bu bulgular eritromisin, lincomisin ve oksitetrasiklin dirençli *L. garvieae* izolatlarından izole edilen R plazmitlerinin karakterize edilmesine ve direnç genleri ermB ve tet(S) varlığının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Aoki vd., 1990; Meyburgh vd., 2017).

Bu çalışmanın amacı; kültür gökkuşağı alabalığı yavrularında görülen laktokokkozis'in tespiti, hastalık etkeni bakteri suşlarının antibiyotik duyarlılığının ortaya konulması ve plazmitlerinin mevcut olup olmadığının araştırılmasıdır.

## Materyal ve Metot

### Örnekleme

Çalışmada incelenen hasta gökkuşağı yavruları Fethiye bölgesinde faaliyet gösteren üç farklı ticari alabalık işletmesinden temin edilmiştir. Örnekleme ilgili

işletmelerin hastalık çıkışlarını bildirdiği Şubat ve Mayıs (2010) ayları olmak üzere her ay yapılmıştır. Örnekleme yapıldığı işletmelerde kullanılan sular, kaynak suyu olup işletme verilerine göre su sıcaklığı 8-12 °C, pH'ı 7.6-8.1 ve çözülmüş oksijen miktarı 7.2-10.2 mg/l arasında değişiklik göstermiştir. Çalışma süresince vücut ağırlıkları 3-20 g arasında değişen toplam 50 yavru balık ile çalışılmıştır.

### Bakteriyolojik Çalışma

Hasta balıklara nekropsi uygulaması sonrası balıkların haemopoietik organlarından (karaciğer, dalak ve böbrek) Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerlerine ekimler yapılmıştır. Ekimli besiyerleri 24 ± 2°C de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir. Besiyerinde gelişme gösteren bakteri kolonilerinden altkültürler yapılmıştır. İzole edilen suşların morfolojik özelliklerinin tespiti Gram boyama yöntemi ile, hareketlilik testi ise asılı damla yöntemi ile belirlenmiştir (Timur ve Timur, 2003). Fizyolojik özelliklerinin tespiti için farklı tuzluluk oranları (%0,2,4,6,8 ve 10 NaCl içeren nutrient buyyonu) ve farklı sıcaklıklarda (4,20,30 ve 35°C de) üreme durumları araştırılmıştır (Seeley vd., 1991). Bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin tespiti amacıyla çeşitli testler uygulanmıştır. Bu testler ; sitokrom oksidaz (tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride), katalaz (%3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), O/F glukoz testi, metil kırmızısı (MR) ve Voges-Proskauer (VP) testleri, TSI da reaksiyon, glükozdan gaz oluşturma, arjinin dihidrolaz üretimi, lizin ve ornitin dekarboksilaz testleri, sitrat kullanımı, indol üretimi, nitrat indirgeme, amilaz üretimi, ONPG (O-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside) testi ve şekerlerden asit üretimi (galaktoz, fruktoz, mannoz, laktoz, mannitol, sorbitol, rafinoz, arabinoz, ksiloz, sukroz ve myo-inositol)'dur (Seeley vd., 1991). Çalışmada izole edilen bakteri suşları Vendrell vd. (2006) ve Austin ve Austin (2012)'ye göre tanımlanmıştır.

## Antibiyotik Duyarlılık Tespiti için Standart Disk Difüzyon Yöntemi

İzolatların antibiyotik duyarlılık testleri Mueller-Hinton agar (MHA) da disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. McFarland No 0.5 bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonundan MHA besiyerine 0.1 ml aktararak yayılmış ve bekletilmiştir. Daha sonra petrilerin kuruması için oda sıcaklığında 5-10 dk bekletilmiştir. Besiyeri yüzeyine çeşitli konsantrasyonlarda değişik antibiyotikleri içeren ticari diskler yerleştirilerek  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$  de 24-48 saat inkübe edilmiştir (Arda, 1997). İnkübasyon süresi sonunda diskler etrafında gelişen zonların çapları milimetrik cetvel ile ölçülerek suşların hassas ve dirençli olup olmadıkları değerlendirilmiştir (NCCLS, 2003; EUCAST, 2011). Çalışmada kullanılan antibiyotikler; Ampisilin (Amp10  $\mu\text{g}$ ), Basitrasin (BC0.04  $\mu\text{g}$ ), Eritromisin (E15  $\mu\text{g}$ ), Flumekuin (UB30  $\mu\text{g}$ ), Furazolidon (FR15  $\mu\text{g}$ ), Kanamisin (K30  $\mu\text{g}$ ), Kloramfenikol (C30  $\mu\text{g}$ ), Nalidiksik asit (NA30  $\mu\text{g}$ ), Oksalidik asit (OA2  $\mu\text{g}$ ), Streptomisin (S10  $\mu\text{g}$ ), Tetrasiklin (TE30  $\mu\text{g}$ ) ve Trimetoprim (W5  $\mu\text{g}$ )'dir.

## Plazmit Analizleri

Hasta gökkuşağı alabalığı yavrularından izole edilen suşlarda plazmit varlığının belirlenmesi amacı ile 24 saatlik bakteri kültürlerinden 10 ml'lik GM17 sıvı besiyerine 1 ml'lik inokülasyonlar yapılarak,  $30^{\circ}\text{C}$  de 3-3.5 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda bakteri kültürü 6000 devirde 15 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen hücre çökeltisi üzerine kurutulduktan sonra 380  $\mu\text{l}$  sukroz tamponu eklenerek su banyosunda  $37^{\circ}\text{C}$  de 5 dakika bekletildikten sonra üzerine 96.5  $\mu\text{l}$  lizozim ilave edilmiş ve su banyosunda  $37^{\circ}\text{C}$  de 5 dakika bekletilmiştir. Lizozim uygulanan hücre çökeltisine 48.5  $\mu\text{l}$  Tris-EDTA-1 (pH 8.0) ve 28  $\mu\text{l}$  %20'lik SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) eklenmiştir.

Lizinin tamamlanabilmesi için su banyosunda  $37^{\circ}\text{C}$  de 10 dakika bırakılmıştır. Daha sonra mekanik karıştırıcıda en yüksek devirde 30 saniye karıştırılarak kromozomal DNA'nın kırılması sağlanmıştır. 3 N NaOH çözeltisinden 28  $\mu\text{l}$  eklenerek 10 dakika süre ile aralıklı olarak karıştırılmıştır. Denatürasyon aşaması sonrasında santrifüj tüplerine 50  $\mu\text{l}$  2 M Tris-HCL (pH 7.0) çözeltisi eklenerek 3 dakika süre ile aralıksız karıştırılmıştır. 5 M NaCl çözeltisinden 72  $\mu\text{l}$  ve %3 NaCl ile doyurulmuş fenol çözeltisinden 700  $\mu\text{l}$  eklenerek  $4^{\circ}\text{C}$  de 12500 devirde 20 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Oluşan üst faz yeni tüplere aktararak deproteinasyonun sağlanması için 700  $\mu\text{l}$  kloroform/izoamil alkol (24:1) uygulaması yapılmıştır.  $4^{\circ}\text{C}$  de 12500 devirde 15 dakika santrifüj işlemi sonrası oluşan üst faz yeni tüplere aktararak üzerine eş değer hacimde etil alkol eklenmiştir. Etil alkol ilaveli tüpler  $-20^{\circ}\text{C}$  de 1 gece bekletildikten sonra  $4^{\circ}\text{C}$  de 12500 devirde 20 dakika santrifüj edilmiştir. Sıvı faz dökülerek çözeltiler kurutulmuştur. Kuruyan çökeltiler 20  $\mu\text{l}$  Tris-EDTA-2 (pH 7.5) içerisinde çözdürülmüş ve RNaz A stok çözeltisinden 2  $\mu\text{l}$  eklenerek  $37^{\circ}\text{C}$  de su banyosunda 45 dakika bekletilmiştir (Anderson ve McKay, 1983). Plazmit DNA'ları %0.7 agaroz jel elektroforez yöntemi ve restriksiyon enzimler ile analiz edilerek varlıkları tespit edilmiştir. Elde edilen agaroz jel görüntülerinde plazmit büyüklüğü belirlenirken GeneRuler 1 kb plus DNA ladder (75-20000 bp) ve High RNage DNA ladder (10171-48502 bp) (Fermentas) büyüklük markırlarından yararlanılmıştır. Alınan agaroz jel görüntüleri UVPro programı ile bilgisayara aktarılmıştır.

Plazmitlerin karakterizasyonunda kullanılan restriksiyon enzimleri ve tanıma bölgelerinin sekans bilgileri (Kuk ve Erensoy, 2008) Tablo 1 de verilmiştir.



**Tablo 1. Çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri (Kuk ve Erensoy, 2008).**

**Table 1. Restriction enzymes used in the study (Kuk ve Erensoy, 2008).**

Enzimin adı	İzole edildiği mikroorganizma	Oluşturduğu uç	Tanım dizisi
BamHI	Bacillus amylolique faciens	Yapışkan uç	5'-G <sup>^</sup> GATCC-3` 3'-CCTAG <sup>^</sup> G-5`
EcoRI	Escherichia coli	Yapışkan uç	5'-G <sup>^</sup> AATTC-3` 3'-CTTAA <sup>^</sup> G-5`
EcoRV	E. coli	Küt uç	5'-G <sup>^</sup> AATTC-3`

## Bulgular

### Klinik bulgular

Çalışmada vücut ağırlıkları 3 g'dan 20 g'a kadar değişen ağırlıklarda toplam 50 adet hasta gökkuşağı alabalığı ile çalışılmıştır. Enfekte balıklarda durgunluk, yem alımında azalma ve iştahsızlık ile havuz su çıkışlarında toplanma gözlenmiştir. Dış klinik bulgular olarak gözlerde ekzoftalmi, hemoraji ve opaklaşma (Şekil 1), dorsal yüzgeçlerde distal kısımda erime ve abdominal kısımda şişkinlik mevcut olup, iç bakıda karaciğerde hemoraji, dalakta büyüme (splenomegali) ve renginde koyulaşma (Şekil 2), karın boşluğunda asidik sıvı birikimi ile böbreklerde kıvamında yumuşama tespit edilmiştir. Enfekte balıklarda bağırsağın gıda yönünden boş olduğu da gözlenmiştir.



Şekil 1. Enfekte balıkta gözde ekzoftalmus, hemoraji ve opaklaşma.  
Figure1. Exophthalmus, haemorrhage and opacification in the infected fish.



Şekil 2. Enfekte balıkta karaciğerde hemoraji, dalakta büyüme (splenomegali) ve renginde koyulaşma.  
Figure 2. Haemorrhage in the liver, enlargement and darkening of spleen in the infected fish.

### Bakteriyolojik bulgular

Şubat-Mayıs ayları arasında yapılan örnekleme çalışmalarında elde edilen suşların tümüne hareketlilik, Gram-boyama, sitokrom oksidaz, katalaz, oksidasyon-fermentasyon testleri dahil bir dizi fenotipik tanı testleri uygulanmıştır. Test sonuçlarına göre Gram-negatif olduğu tespit edilen suşlar (28 hareketli *Aeromonas* sp. suşu, 5 *Pseudomonas* sp. suşu, 4 *Enterobacter* sp. suşu ve 8 *Edwardsiella* sp. suşu) araştırma konusu olmadığından sadece Gram-pozitif, hareketsiz, fermantatif, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif sonuç veren *Lactococcus* sp. suşları ile çalışılmıştır. Çalışmada *Lactococcus* sp. olarak tanımlanan suşlar besiyerinde küçük, yuvarlak ve beyaz renkli koloniler oluşturmuştur. Suşların kanlı vasatta  $\alpha$ -hemoliz

oluşturup içerisinde farklı konsantrasyonlarda (%0-8) NaCl içeren sıvı besiyerinde gelişme gösterdikleri ancak %10 NaCl içeren sıvı besiyerinde gelişemedikleri tespit edilmiştir. Bakteri suşları farklı sıcaklık derecelerinde (4°C-35°C) gelişme göstermiş olup, d-glukoz, fruktoz, galaktoz ve mannitolden asit oluşturdukları ancak sukroz, mannoz, sorbitol ve ksilozdan ise asit oluşturmadıkları tespit edilmiştir.

Suşların ONPG-pozitif olup, amilaz üretimleri ise negatif bulunmuştur. Suşlar ayrıca arjinin dihidrolaz pozitif iken, lizin ve ornitin dekarboksilaz testleri negatif sonuç vermiştir. Çalışma sonuçlarına göre suşlar *Lactococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır (Vendrell vd., 2006; Austin ve Austin, 2012). Suşların fenotipik özellikleri Tablo 2 de verilmiştir.

**Tablo 2. *Lactococcus garvieae* suşlarının fenotipik özellikleri**

**Table 2. Phenotypical characteristics of *Lactococcus garvieae* strains**

Özellik	Mevcut çalışma	Austin & Austin (2012)	Vendrell vd. (2006)
Hücre morfolojisi	oval kok	kok	oval kok
Gram boyama	+	+	+
Hareketlilik	-	-	-
Sitokrom oksidaz	-	-	-
Katalaz	-	-	-
O/F	F	F	F
Hemoliz	$\alpha$	$\alpha$	$\alpha$
Sitrat (Simmon's)	-	.	-
Nitrat indirgeme	-	-	-
Metil kırmızısı	+	+	.
Voges-Proskauer	+	+	+
İndol üretimi	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-
Glukozdan gaz oluşumu	-	.	.
Büyüme			
0% NaCl	+	+	.
2 % NaCl	+	+	.
4 % NaCl	+	+	.
6 % NaCl	+	+	+
8 % NaCl	+	.	.
10% NaCl	-	.	.
4°C	+	.	+
20°C	+	+	+
30°C	+	+	+

35°C	+	+	+
ADH	+	+	+
LDK	-	.	-
ODK	-	.	-
Niřasta (amilaz)	-	.	.
ONPG	+	.	.
Asit oluşumu			
Laktoz	-	-	(+)
D-Glukoz	+	+	+
D-Fruktoz	+	+	.
Galaktoz	+	+	+
Mannitol	+	+	+
Sükroz	+	-	D
D-Mannoz	+	+	+
Sorbitol	-	+	-
Rafinoz	-	-	-
İnositol	-	.	-
Arabinoz	-	-	-
D-Ksiloz	-	-	-

+ : pozitif, - : negatif, (+): zayıf ya da yavaş reaksiyon, D: değişken reaksiyon, .: belirtilmemiş, F: Fermentatif,  $\alpha$ : alfa hemolitik, ADH: Arjinin dehidrolaz, LDK: Lizin dekarboksilaz, ODK: Ornitin dekarboksilaz, ONPG: Orto-Nitrofenil- $\beta$ -Galaktozid.

#### Antimikrobiyal Duyarlılık Test Sonuçları

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre, *L. garvieae* suşlarının Ampisilin, Kloramfenikol, ve Tetrasiklin antibiyotiklerine duyarlı oldukları ancak Basitrasin, Flumekuin, Furazolidon, Kanamisin, Nalidiksik Asit,

Oksalinik Asit ve Streptomisin'e ise dirençli oldukları tespit edilmiştir (Tablo 3). Suşlar arasında Eritromisin'e değişen derecede direnç tespit edilerek, iki suşun orta dirençli, bir suşun ise hassas olduğu tespit edilmiştir. Suşların Trimetoprim'e ise orta derecede dirençli oldukları tespit edilmiştir.

**Tablo 3. L. garvieae suşlarının standart disk difüzyon testine göre antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.****Table 3. Antimicrobial sensitivity results of L. garvieae strains according to the standard disk diffusion test results.**

Antibiyotikler	Suşlar		
	1	2	3
Ampisilin(10 µg) <sup>a</sup> Zon çapı (mm) H I D ≥17 - ≤16	*H(26)	H(26)	H(27)
Basitrasin	D	D	D
Eritromisin (15 µ) <sup>a</sup> Zon çapı (mm) H I D ≥23 22-14 ≤13	I(22)	H(24)	I(22)
Flumekuın	D	D	D
Furazolidon	D	D	D
Kanamisin	D	D	D
Kloramfenikol (30 µg) <sup>a</sup> Zon çapı (mm) H I D ≥18 17-13 ≤12	H(23)	H(25)	H(27)
Nalidiksik asit	D	D	D
Oksalinik asit	D	D	D
Streptomisin	D	D	D
Tetrasiklin (30 µg) <sup>a</sup> Zon çapı (mm) H I D ≥19 18-15 ≤14	H(24)	H(24)	H(26)
Trimetoprim (5 µg) <sup>b</sup> Zon çapı (mm) H I D ≥50 - ≤21	I(27)	I(25)	I(23)

<sup>a</sup>Enterococcus sp. için NCCLS (2003) tarafından bildirilen direnç zon çapları.

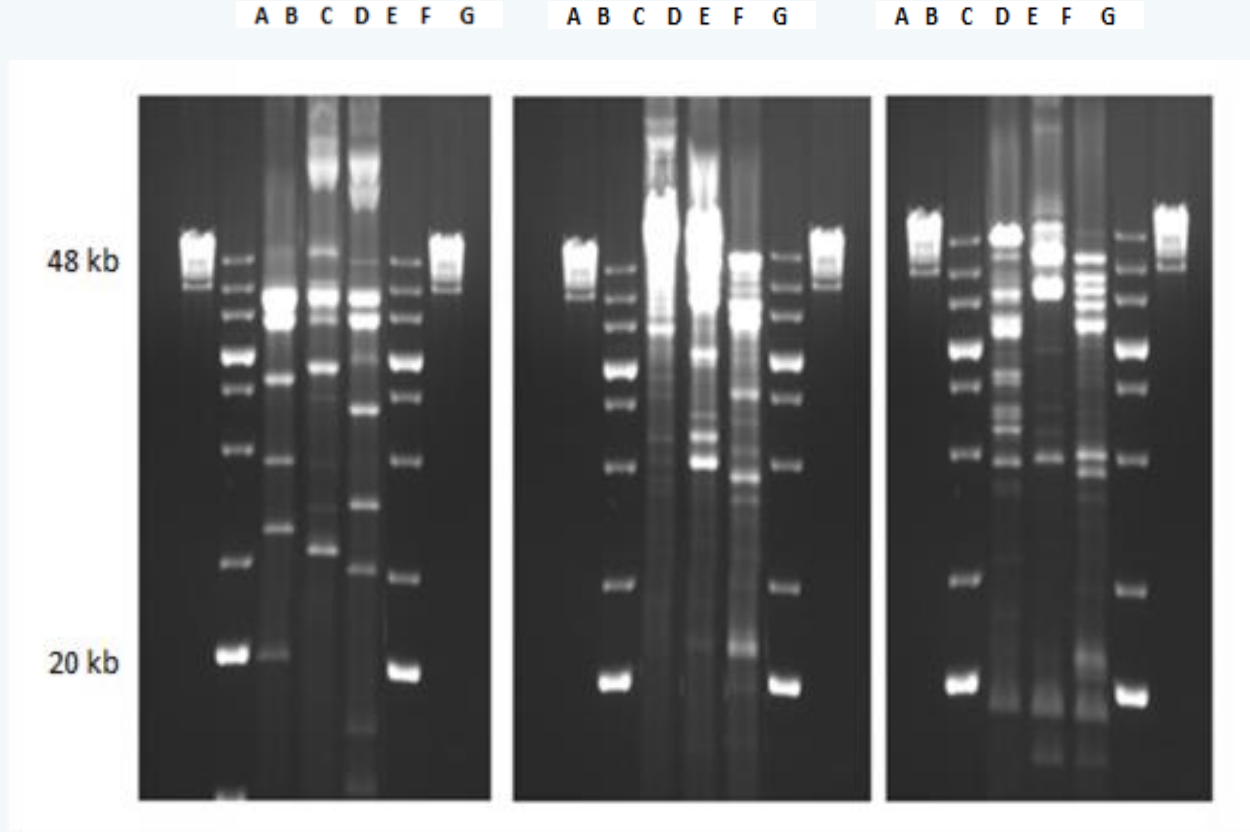
<sup>b</sup>Enterococci spp. için EUCAS (2011) tarafından bildirilen direnç zon çapı.

H: Hassas, D: Dirençli, O: Orta derecede dirençli.

### Plazmit sonuçları

Yapılan plazmit analiz sonuçlarına göre, *L. garvieae* suşlarının farklı boyutlarda plazmitleri içerdikleri bulunmuştur. Suşların plazmit DNA'ları EcoRI, BamHI ve EcoRV restriksiyon enzimleri ile kesilip agaroz jel elektroforez analizleri incelendiğinde, suşlardan elde edilen plazmitlerden en az birinin diğerlerinden farklı olduğu görülmüştür. Plazmit DNA'ları EcoRI restriksiyon enzimi ile kesildiğinde sadece iki numaralı suшта en üstte tek ürün (36 kb) görülmüştür. EcoRV

restriksiyon enzimi ile kesildiğinde ise bir nolu suшта en üstte iki restriksiyon enzim ürünü (40 kb ve 38 kb) tespit edilirken, iki ve üç nolu suşlarda ise enzim ürünü tespit edilememiştir. Plazmit DNA'ları BamHI restriksiyon enzimi ile kesildiğinde bir nolu suшта 32 kb'lık, iki nolu suшта ise tespit edilememiştir (Şekil 3). Çalışma sonuçlarına göre, plazmit içeren suşların basitrasin, flumekuın, furazolidon, kanamisin, nalidiksik asit, oksalinik asit ve streptomisin'e direnç gösterdikleri de bulunmuştur.



(A: 48kb marker, B: 20kb marker, C:EcoRI (enzim), D: BamHI (enzim), E: Eco RV (enzim),F: 20kb marker, G: 48kb marker).

Şekil 3. Suşların plazmit analiz sonuçları.

Figure 3. Plasmid analysis results of strains.



## Tartışma

Çalışma boyunca elde edilen makroskobik bulguların lactococcosis enfeksiyonundan etkilendiği bildirilen balıklarda gözlenen klinik bulgulara benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Vendrell vd., 2006; Savvidis vd., 2007). Çalışmada *Lactococcus garvieae* suşlarının tanımlanması fenotipik tanı yöntemleri ile yapılmıştır. Suşların fenotipik özelliklerinin Vendrell vd. (2006) ile Austin ve Austin (2012) tarafından *L. garvieae* için bildirilen özelliklere benzer özellik gösterdiği bulunmuştur. Su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel enfeksiyonların tedavisi antibiyotikler ile yapılmaktadır. Ancak antibiyotikler çoğu kez etkisiz olmakta ve enfeksiyonun tekrarını önleyememektedir (Menéndez vd., 2007). Mazzolini vd. (2003) *L. garvieae* suşlarının ampisilin, amoksisilin, oksitetrasiklin ve eritromisin'e karşı hassas, flumekuün, oksalinik asit, streptomisin ve trimetoprim'e ise dirençli olduğunu bildirmiştir. Kav ve Erganiş (2008) çalıştıkları *L. garvieae* suşlarının ampisilin, eritromisin, kloramfenikol ve oksitetrasiklin'e hassas olduğunu, suşların basitrasin'e ise direnç gösterdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda *L. garvieae* suşlarının eritromisin, kloramfenikol ve oksitetrasiklin'e hassas olduğu, suşların basitrasin, flumekuün, furazolidon, kanamisin ve oksalinik aside dirençli olduğu bulunmuştur. Bu bulgular Kav ve Erganiş (2008), Mazzolini vd. (2003)'nin bulgularına benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Gökkuşığı alabalıklarında hastalıklara neden olan bakteri türlerinin örneğin *Flavobacterium psychrophilum* (Izumi ve Aranishi,

## Sonuç

Bu çalışma sonucunda, Fethiye bölgesindeki gökkuşığı alabalığı işletmelerindeki yavru balıklardan Şubat-Mayıs ayları arasında (su sıcaklığının yükselmeye başladığı dönem) laktokokkozis'in etiyolojik etkeni *L. garvieae* izole ve identifiye edilmiştir. Suşların

2004), *Vibrio salmonicida* (Sørum ve Olsuiko, 1998), *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* (Toranzo vd., 1993)'nin plazmit analizleri farklı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Bununla birlikte, gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* suşlarının plazmit profilleri üzerine sınırlı sayıda çalışma mevcut olup bu çalışmalar R-plazmit aktarımı ile ilgilidir (Maki vd., 2008). Maki vd. (2008) sarı kuyruk balıklarından izole ettikleri *L. garvieae* suşlarında plazmit bulunmadığını bildirmiştir. Bounaix vd. (1996) *L. garvieae*'nin plazmit analizi ile ilgili çalışmalarında bir suшта plazmitin görülmediğini ancak iki suшта plazmit büyüklüklerini 12.5 kb ve 5.1 kb olarak bulduklarını bildirmiştir. Çalışmamızda suşların büyük plazmitlere sahip oldukları ve plazmit büyüklüklerinin 32 kb'den 40 kb'ye kadar değiştiği bulunmuştur. Çalışmamızda Maki vd. (2008) ile Bounaix vd. (1996)'nin çalışmalarından farklı olarak suşların plazmit içerdikleri görülmüştür. Çalışmamızda suşların plazmit DNA'ları EcoRI, BamHI ve EcoRV restriksiyon enzimleri ile kesilip agaroz jel elektroforez analizleri incelendiğinde, bu üç restriksiyon enziminin sadece 1 numaralı suшта plazmiti tespitinde yardımcı olmuştur. Maki vd. (2008) izole ettikleri suşlarda plazmit bulunmadığını, Bounaix vd. (1996) ise bir suшта plazmitin bulunduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda bakteri suşlarının plazmit içermekle birlikte, suşların basitrasin, flumekuün, furazolidon, kanamisin, nalidiksik asit, oksalinik asit ve streptomisin'e direnç gösterdikleri tespit edilmiştir.

ampisilin, tetrasiklin ve kloramfenikol'e hassas, flumekuün, oksalinik asit ve furazolidon'a ise dirençli oldukları tespit edilmiştir. Suşların antibiyotik hassasiyetlerinin diğer ülkelerdeki izolatlardan farklı olduğu bulunmuştur. Bu durumun diğer ülkelerde

hastalığın tedavisinde yoğun antibiyotik kullanımından kaynaklanabileceği gibi diğer bakteri türlerine ait çevresel suşlardan direnç-gen aktarımlarından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, tedavi

### Teşekkür

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi(2010.02.0121.010) tarafından desteklenmiştir. Çalışmanın plazmit kısmının

için antibiyotiklerin gelişigüzel kullanımını maddi açıdan dezavantaj olmaktadır. Çalışmada suşların plazmit içerdikleri ve bunun da daha sonraki direnç-gen çalışmaları için faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

analizlerinde yardımlarından dolayı Prof. Dr. Mehmet Karaca, Doç. Dr. Ayşe Gül İnce ve Araş. Gör. Adnan Aydın'a teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

**Anderson, D. G., McKay, L. L. (1983).** A simple and rapid method for isolation large plasmid DNA from lactic streptococci. *Appl Environ Microbiol.*, 46(3), 549-552.

**Aoki, T., Takami, K., Kitao, T. (1990).** Drug resistance in a non-hemolytic *Streptococcus* sp. isolated from cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Dis Aquat Org.*, 8, 171-7.

**Arda, M. (1997).** Temel Mikrobiyoloji. Ankara: Medisan Yayın No: 25.

**Avcı, H., Aydoğan, A., Tanrıkul, T. T., Birincioğlu, S. S. (2010).** Pathological and microbiological investigations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) naturally infected with *Lactococcus garvieae*. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 16, 313-18. DOI: 10.9775/kvfd.2010.2452.

**Altun, S., Diler, Ö., Adiloğlu, K. (2004).** Genotyping of *Lactococcus garvieae* strains from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by 16s rDNA sequencing. *Bull Eur Ass Fish Pathol.*, 24, 119-125.

**Austin, B., Austin, D. A. (2012).** Bacterial Fish Pathogens. Disease of Farmed and Wild Fish. UK: Springer.

**Bounaix, S., Benachour, A., Geerges, N. (1996).** Presence of lactose genes and insertion sequences in plasmids of minor species of the Genus *Lactococcus*. *Appl Environ Microbiol.*, 62(3), 1112-1115.

**CLSI (Clinical and laboratory Standards Institute) (2006).** Temel Mikrobiyoloji. Ankara: Medisan yayın No: 25.

**Çağrgan, H., Tanrıkul, T. T. (1997).** A *Lactococcus* in a trout farm. *Mediterranean Fisheries Congress*, İzmir, 40.

**Didinen, B. I., Yardımcı, B., Onuk, E. E., Metin, S., Yıldırım, P. (2014).** Naturally *Lactococcus garvieae*

infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) new histopathological observations, phenotypic and molecular identification. *Revue Méd Vét.*, 165(1-2), 12-19.

**Diler, O., Altun, S., Adiloğlu, K. A., Kubilay, A., Işıklı, B. (2002).** First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull Eur Ass Fish Pathol.*, 22, 21-6.

**EUCAST, (2011).** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.

**Fukushima, H. C. S., Bailone R. L., Ranzani Paiva, M. J. T. (2017).** Lactococcosis reared fish in Brazil and control strategies. *J Vaccines Vaccin.*, 8, 1-3. DOI: 10.4172/2157-7560.1000357.

**Izumi S., Aranishi, F. (2004).** Plasmid profiling of Japanese *Flavobacterium psychrophilum* isolates. *J Aquat Anim Health*, 16, 99-103.

**Kav, K., Erganiş, O. (2008).** Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms. *Bull Vet Inst Pulawy*, 52, 223-226.

**Kitao, T. (1993).** Streptococcal infections. In: Inglis V., Roberts RJ, Bromage NR(ed's). *Bacterial Diseases of Fish*. Blackwell Sciences Ltd, Cambridge, UK, 196-210.

**Kubilay, A., Altun, S., Uluköy, G., Diler, Ö. (2005).** *Lactococcus garvieae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. *SDU-ESUFD*, 1(1), 39-48.

**Kuk, S., Erensoy, A. (2008).** Gen klonlama, plazmit seçimi ve *Fasciola hepatica* Cathepsin L1 uygulamaları. *Türkiye Parazitol Derg.*, 32(1), 16-22.

- Maki, T., Hirano, I., Aoki, I. (2008).** Drug resistance mechanism of the fish pathogenic bacterium *Lactococcus garvieae*. *J Fish Dis.*, 31, 461-468.
- Mazzolini, E., Vismara, D., Ceschia, G., Malvisi, J., Fabris, A., Passera, A., Danielis, L., Giorgetti, G. (2003).** In vitro activity of several chemiantibiotics against clinical isolates of fresh and marine fish pathogens. *Appl Environ Microbiol.*, 77, 2114-2185.
- Menéndez, A., Fernandez, L., Reimundo, P., Guijarro, J. A. (2007).** Genes required for *Lactococcus garvieae* survival in a fish host. *Microbiology*, 153, 3286-3294.
- Meyburgh, C. M., Bragg, R. R., Boucher, C. E. (2017).** *Lactococcus garvieae*: an emerging bacterial pathogen of fish. *Dis Aquat Org.*, 123 (1), 67-79. DOI: 10.3354/dao03083.
- NCLS (2003).** Disk Difüzyon Ek Tablolar, M100-S13 (M2). İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti.
- Öztürk, T., Didinen, B. I., Doğan, G., Özer, A., Bircan, R. (2009).** Gökkuşluğu alabalığında, (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) lactococcosis hastalığı ve *Lactococcus garvieae*'nin antibakteriyel duyarlılığı. *Ulusal Su Günleri 2009 Sempozyumu*, Elazığ.
- Pridgeon, J. W., Klesius, P. H. (2012).** Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Reviews*, 7 (48), 1-16. DOI: 10.1079/PAVSNNR20127048.
- Savvidis, G. K., Anatoliotis, C., Kanaki, Z., Vafeas G. (2007).** Epizootic outbreaks of lactococcosis disease in rainbow trout, *O. mykiss* (Walbaum), culture in Greece. *Bull Eur Ass Fish Pathol.*, 28(5), 223-8.
- Seeley, W., VanDemark, P. J., Lee, J. J. (1991).** *Microbes in Action. A Laboratory Manual of Microbiology.* New York: W. H. Freeman and Company.
- Shin, G. W., Palaksha, H. H., Yang, Y. S., Shin, Y. S., Kim, Y. R., Lee, E. Y., Kim, H. Y., Oh, M. J., Yoshida, T., Jung, T. S. (2006).** Discrimination of streptococcosis agents in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Bull Eur Ass Fish Pathol.*, 26, 68-79.
- Soorum, H., Olsuiko, P. (1998).** Plasmids in *Vibrio salmonicida* isolated from salmonids with haemorrhagic syndrome (Hitra disease). *J Clin Microbiol.*, 26(9), 1679-1683.
- Timur, G., Timur, M. (2003).** *Balık Hastalıkları.* İstanbul: İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 5.
- Toranzo, A. E., Combarro, P., Lemas, M. L., Barja, J. L. (1994).** Plasmid coding for transferable drug resistance in bacteria isolated from cultured rainbow trout. *Appl Environ Microbiol.*, 48(4), 872-877.
- Türe, M., Alp, H. (2016).** Identification of bacterial pathogens and determination of their antibacterial resistance profiles in some cultured fish in Turkey. *J Vet Res*, 60, 141-6. DOI: 10.1515/jvetres-2016-0020.
- Vendrell, D., Balcazar, J. L., Ruiz-Zarzuola, I., de Blas, I., Girones, O., Muzquiz, J. L. (2006).** *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comp Immun Microbial Infect.*, 29, 177-198.

## Aydın İlinde Yetiştirilen Siyah Alaca İneklerde Karşılaştırmalı Vücut Kondisyon Skoru İle NEFA Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Investigation on The Relationship Between Comperative Body Condition Score and Nefa Levels Among Holstein Cows Raised in Aydın Municipality

### Özet

Bu çalışma, Siyah Alaca ineklerde vücut kondisyon skoru ile NEFA düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Araştırmanın hayvan materyalini, Aydın ili Bozdoğan ilçesinde mevcut süt sığırcılığı işletmelerinde yetiştirilen, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Büyük Hayvan Kliniklerine gelen ve Aydın ili özel işletmelerine kayıtlı 4-6 yaş aralığında ve geçiş döneminde (doğum öncesi -3. haftadan, buzağılama sonrası +3. haftaya kadar olan süreçte) olan 21 baş Siyah Alaca gebe inek oluşturmuştur. Araştırmada Siyah Alaca inekler VKS bakımından da 3 farklı gruba ayrılmıştır:  $2 < VKS < 3$ ,  $3 < VKS < 4$  ve  $4 \leq VKS$ . Çalışma kapsamında hayvanların vücut kondisyon skorlaması kuru dönemde (buzağılama öncesi -2 hafta;  $15 \pm 2$  günlerde) ve puerperal dönemde (postpartum +2. haftada;  $15 \pm 3$  Günlerde) gerçekleştirilmiştir. İneklerin vücut kondisyon skorunun (VKS) tespit edilmesinde 5'lik sistem kullanılmıştır. Yine aynı dönemlerde hayvanlarda negatif enerji dengesinin etkisini belirlemek amacıyla serum biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Pre-partum dönemde yapılan ölçümlerde NEFA konsantrasyonu  $0.48 \pm 0.089$  mmol/L olarak, buzağılama sonrası 0 ile 15 günlük süreçte ise  $1.01 \pm 0.189$  mmol/L olarak tespit edilmiştir ( $P < 0.01$ ). VKS sınıflarına göre NEFA ortalamaları, buzağılama öncesi ve sonrası dönemlerde sırasıyla  $0.52 \pm 0.104$  mmol/L ile  $0.35 \pm 0.149$  mmol/L olarak tespit edilmiştir. Buzağılama sonrası dönemde ise vücut kondisyonu artan ineklerde NEFA değerlerinde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Esterleşmemiş serbest yağ asidi konsantrasyonları üzerine VKS etkisi değerlendirildiğinde ise istatistik bakımdan önemli bir ilişkiye rastlanmamıştır ( $P > 0.05$ ). VKS ile NEFA arasındaki korelasyonlar Pearson Korelasyon Testi yardımıyla hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucunda VKS ile NEFA arasında düşük ve negatif yönlü bir korelasyon ( $-0.24$ ) saptanmıştır ( $P > 0.05$ ). Sonuç olarak, farklı fizyolojik yapı sergileyen ineklerin mevcut metabolik profili değerlendirilerek enerji dengelerinin tespit edilmesi ve bu şekilde bazı metabolik ve üretim problemlerinin önüne geçilmesi mümkün olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Siyah Alaca, Vücut Kondisyon Skoru, Esterleşmemiş Yağ Asidi

### Araştırma Makalesi

Deniz Aliç Ural<sup>1</sup>  
Songül Erdoğan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Veteriner Fakültesi, Çiftlik Hayvanları,  
Adnan Menderes Üniversitesi  
<sup>2</sup>Veteriner Fakültesi,  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı  
Adnan Menderes Üniversitesi

### İletişim (Correspondence)

Deniz Aliç Ural  
alicdeniz@gmail.com

*Makale Bilgisi*  
Geliş: 05-04-2018  
Kabul: 26-04-2018

## Abstract

This study was conducted to determine the relationship between body condition score and NEFA levels in Holstein cows. The animal material of the study was collected at the 4- to 6-year-old age (from -3 weeks before birth to +3 days after birth) in Aydın province Bozdoğan province, which is grown in dairy cattle businesses, Adnan Menderes University Veterinary Faculty, week), the head of the Black Pied Prenatal cow was formed. In the study Black Holstein cows were divided into 3 groups according to BCS: 2 <BCS <3, 3 <BCS <4 and 4 BCS. In the study, the body condition scores of the animals were carried out during the dry period (pre-calving 2 weeks,  $15 \pm 2$  days) and puerperal period (postpartum 2 weeks,  $15 \pm 3$  days). A 5-point system was used when the cow's body condition score (BCS) was determined. In the same period, serum biochemical analyzes were carried out to determine the effect of negative energy balance in animals. NEFA concentration was  $0.48 \pm 0.089$  mmol / L in pre-partum period and  $1.01 \pm 0.189$  mmol / L in 0-15 days after calving ( $P < 0.01$ ). According to BCS classes, NEFA averages were found to be  $0.52 \pm 0.104$  mmol/L and  $0.35 \pm 0.149$  mmol/L in prepartum and postpartum periods, respectively. In the postpartum period, it was determined that there was an increase in NEFA values in cows with increased body condition. The effect of BCS on non-esterified fatty acid concentrations was not found significant ( $P > 0.05$ ). The relation between BCS and NEFA were investigated by Pearson correlation. The low and negatif correlations ( $-0.24$ ) was found between BCS and NEFA ( $P > 0.05$ ). As a result, it may be possible to determine energy balances by evaluating the current metabolic profile of cows exhibiting different physiological structure and thus avoiding some metabolic and production problems.

Key words: Holstein-Friesian, Body Condition Score, Non-esterified fatty acid

## Giriş

Süt sığırcılığında karlılığı etkileyen en önemli faktörlerden birisi üreme performansıdır. Son 30-40 yıllık periyotta genetik ilerleme ve süt verimi artışına paralel olarak (Patton vd., 2006), ilk tohumlamadaki gebelik oranının %65'ten %45'e düştüğü (Butler, 1998), gebelik başına yapılan tohumlama sayısının 1.62'den 2.91'e (Silvia, 1998) yükseldiği görülmektedir. Ayrıca üreme problemleri nedeniyle ortaya çıkan kaybın inek başına yıllık 52\$ seviyelerinde olduğu bildirilmektedir (Bellows vd., 2002).

Süt sığırlarında üreme performansı son yıllarda verimin artmasıyla birlikte düşme eğilimi göstermiştir (Butler, 1998). Bunun süt verimi bakımından sağlanan genetik ilerleme ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Doğum sonrası laktasyonla birlikte süt ineklerinde besin madde gereksinimleri ciddi boyutta yükselmektedir. Ancak, gereksinimlerdeki artışa karşın yem tüketim kapasitesinin sınırlı olması negatif enerji bilançosunu doğurmaktadır.

Negatif enerji dengesinin şiddeti, hayvanın süt verimi, sütün kompozisyonu ve hayvanın yem tüketim kapasitesiyle değişmektedir. Negatif enerji dengesine (NED) bağlı olarak süt ineklerinde vücut rezervlerinin yoğun kullanımı söz konusudur. Tamminga vd., (1997) laktasyonun ilk 8 haftasında 41.6 kg ağırlık kaybeden ineklerde kaybın 30.9 kg'ını yağ ve 4.6 kg'mın ise protein olduğunu bildirmiştir. Bu metabolik yük hayvanlarda üreme performansının bozulmasında etkili olmaktadır (Görgülü vd., 2011). Yüksek verimli hayvanlarda kızgınlık süresi (6.2 saate karşı 10.9 saat, Lopez vd., 2004) ile kızgınlık belirleme oranı düşmekte (1985: %50.9, 1999: %41.5, Washburn vd., 2002), servis periyodu uzamakta (Roche vd., 2000, Gong 2002), anöstrus görülme sıklığı yükselmekte (Mwaanga ve Janowski, 2000), oositlerin dölleme kabiliyetleri düşmekte, ikizlik artmakta (Wiltbank, 2006) ve embriyonal kayıplar yüksek (Silke vd., 2002) olmaktadır.

Hayvancılığı gelişmiş olan ülkelerde vücut kondisyon puanı sürü yönetim programlarında süre gelen bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır. Vücut kondisyon skoru (VKS), süt ineklerinin gerek vücutlarındaki yağ düzeylerini ölçmeye yarayan ve gerekse enerji dengesini gösteren dolaylı ölçütlerden biri olarak kullanılmaktadır (Kellogg, 1914; Yaylak ve Kaya, 2000; Çitil ve Uzlu, 2005; Varışlı ve Tekin, 2011). Bunun yanında, ineklerin VKS'sinden sağlık, verim ve metabolik profilleri hakkında bilgi edinmek üzere bir ölçüt olarak da yararlanılmaktadır (Coşkun, 1997; Roche vd., 2009; Amaral-Phillips, 2010).

Kellogg (1914) VKS'nin, bir süt ineğinin deri altı yağ dokusu miktarının ölçümüne dayalı olduğunu bildirirken, Defra (2001) VKP ölçümlerinin ekonomik besleme, kaliteli üretim ve hayvan refahı arasındaki dengenin sağlanması amacıyla yapıldığını ifade etmiştir. Yaylak ve Kaya (2000) ise VKS'nin süt ineklerinin gereksinimlerine yönelik bir yemleme programını düzenlemeye yardımcı olduğunu bildirmiştir. Bunun yanı sıra süt ineklerinde laktasyon dönemlerine bağlı olarak vücut kondisyonlarında meydana gelen değişimin tespiti ve uygun kondisyonun sürdürülmesinde bir ölçüm sistemi olarak VKS'nin yararlı olduğu da yapılan tespitler arasında yer almıştır (Varışlı ve Tekin, 2011; Ayaşan vd., 2012).

Son 40 yıldan beri özellikle yüksek süt verimine sahip ırkların yetiştiricilikte kullanılmasıyla hayvan başına alınan süt miktarı iki katından daha fazla oranlara çıkmış olmakla birlikte (Oltenucu, 2007), erken laktasyon döneminde (0-70. Gün) yüksek süt verimini karşılamaya yetmeyen enerji açığının vücut yağları ve kaslardan giderilmeye çalışıldığı tespit edilmiştir (Suriyasathaporn, 1999; Bobe vd., 2004; Leslie vd., 2004; Kehrlı vd., 2006; LeBlanc, 2010; Gumen vd., 2011). Ayrıca süt verimindeki artışı sağlamak için yapılan genetik seleksiyonlar, yem tüketim potansiyeli

ile erken laktasyon dönemi süt üretimi arasındaki uçurumu daha da genişletmekte ve genetik olarak NED oluşumunda artış gösterdiği ifade edilmektedir (Patton vd., 2006). Bu dönemde vücut yağ rezervlerinin yaklaşık %60'ı doğumdan sonraki ilk haftada da enerji için mobilize olmakta ve vücut rezervlerindeki kayıp ile postpartum adipoz dokulardan yağ mobilizasyonu doğru orantılı gelişmektedir (Gillund vd., 2001; Kim ve Suh, 2003; Samanc vd., 2011). Sonuç olarak, VKS'de NEFA ve vücut rezervlerindeki kayıpla birlikte değişiklik göstermektedir (Kadokawa ve Martin, 2006; Knop ve Cernescu, 2009).

Erken laktasyon döneminde enerji dengesinin değerlendirilmesinde, VKS tek başına yeterli bir belirteç olarak görülmemektedir. VKS değerlendirilirken kas ve abdominal dokulardan ziyade deri altı dokulardaki değişimler de gözlemlenmelidir. Erken laktasyon döneminde gerekli enerjiyi sağlamak için kullanılan kas ve abdominal yağ dokuları (Butler-Hogg vd., 1985), deri altı dokulara göre daha önce toparlanmaktadır. Bu nedenle hayvan kaybettiği dokuları kazanıp, pozitif enerji dengesinde olsa bile VKS'nin laktasyonun ilerleyen dönemlerinden önce bu tabloyu yansıtmadığı belirtilmektedir (McGuire vd., 2004).

Vücut yağ depolarındaki yıkımların sona erdiği laktasyon sonrası süreç ve VKS arasındaki ilişkinin incelendiği farklı çalışmalar mevcut olup laktasyonun 8. haftasında (Gibb vd., 1992), vücut kompozisyonun belirlendiği özel bir tekniğe göre laktasyonun 15. haftasında vücut yağ kompozisyonlarının yerine geldiği ve yağ mobilizasyonunun durduğu belirtilmektedir (Komaragiri vd., 1998). McArt vd., (2012) tarafından prepartum dönemde artan VKS ve NEFA konsantrasyonu ile doğum esnasındaki komplikasyonlar ve postpartum ketozis gelişme riski arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise doğum esnasında VKS >3.5 olan sığırlarda ketozis oluşma riski



doğum esnasında istenilen VKS (3.25)' ye sahip sığırlara göre daha yüksek bulunmuştur (Gillund vd., 2001; Dann vd., 2006; Roche vd., 2009; Samanc vd., 2011). Aynı şekilde doğum öncesi orta (3.25–3.75) ya da yağlı ( $\geq 4$ ) VKS sahip ineklerde zayıf ( $\leq 3.0$ ) olanlara göre subklinik ketosis ve klinik ketozis gelişme riskinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Vanholder vd., 2015).

## Materyal ve Yöntem

### Hayvan Materyali

Araştırmanın hayvan materyalini, Aydın ili Bozdoğan ilçesinde mevcut süt sığırcılığı işletmelerinde yetiştirilen, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Büyük Hayvan Kliniklerine gelen ve Aydın ili özel işletmelerine kayıtlı 4-6 yaş aralığında ve geçiş döneminde (doğum öncesi-3. haftadan, buzağılama sonrası +3. haftaya kadar olan süreçte) olan 21 baş Siyah Alaca gebe inek oluşturmuştur.

### Yöntem

#### Kayıtların Değerlendirilmesi ve Grupların Oluşturulması

Çalışmada Siyah Alaca inekler VKS bakımından da 3 farklı gruba ayrılmıştır:  $2 < \text{VKS} < 3$ ,  $3 < \text{VKS} < 4$  ve  $4 \leq \text{VKS}$ . Söz konusu gruplar oluşturulmadan önce işletme kayıtları incelenerek hayvan materyalinin kulak numarası, laktasyon sırası ve dönemi ile son buzağılama tarihleri gibi bilgileri kayıt altına alınmıştır.

Deneme hayvanların gruplara dağıtılması kura sistemine (tesadüfi olarak) dayalı olarak yapılmış ve söz konusu grupların laktasyon sırası, laktasyon dönemi ve canlı ağırlık ortalamaları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olması sağlanana kadar kura atışı tekrar edilmiştir.

Bütün bu bilgiler ışığında söz konusu çalışmada geçiş dönemindeki gebe ineklerde vücut kondisyon skoru ile negatif enerji dengesi arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Vücut Kondisyon Skorunun Tespiti

Çalışma kapsamında hayvanların vücut kondisyon skorlaması kuru dönemde (buzağılama öncesi -2 hafta;  $15 \pm 2$ . günlerde) ve puerperal dönemde (postpartum +2. haftada;  $15 \pm 3$ . günlerde) gerçekleştirilmiştir. İneklerin VKS'sinin tespit edilmesinde Edmonson vd., (1989) tarafından geliştirilen ve gözle vücut rezervlerini değerlendirmeye imkân veren yöntemden yararlanılmıştır. Söz konusu yöntemde, serbest halde hareket halinde olan ineklerin bel, kalça ve kuyruk sokumu bölgelerini gözlemek suretiyle 1'den 5'e kadar 0,25 puan aralıkla puanlama gerçekleştirilmektedir.

### Serum Biyokimyasal Analizler

Hayvanlarda negatif enerji dengesinin etkisini belirlemek amacıyla serum biyokimyasal analizler kuru dönemde (buzağılama öncesi -2 hafta;  $15 \pm 2$ . günlerde) ve puerperal dönemde (buzağılama sonrası +2. haftada;  $15 \pm 3$ . günlerde) olmak üzere toplam 2 kez yapılmıştır. Tüm olgularda 2 defaya mahsus olmak üzere vena cephalica antebraçhii'den 5 ml'lik antikoagülsüz tüplere alınan kan örnekleri 6000 devir/dk' da 5 dakika santrifüj edilerek plazmalarına ayrıştırılmıştır. Ayrıştırılan plazmalardan hayvan başı Diaglobal VetPhotometer DP 700 (Diaglobal, Almanya Distribütörü Genartek, Türkiye) cihazında NEFA analizi gerçekleştirilmiştir. İşletme koşullarında yürütülen

NEFA analizlerine ilişkin bazı görseller aşağıda yer almaktadır (Şekil 1.).



Şekil 1: İşletme koşullarında NEFA analizinin aşamaları  
Figure 1: NEFA analyses under field conditions.

NEFA analizleri enzimatik kolorimetrik yöntem olan asetilkolin sentetaz-asetil kolin oksidaz enzim reaksiyonu prensinine dayanmaktadır. Plazmadaki NEFA' lar ATP ve koenzim varlığında asetilkolin sentetaz enzim reaksiyonu ile asetil CoA' ya indirgenmekte ve oluşan asetil CoA' larda asetilkolin oksidaz enzimi ile hidrojen peroksit dönüşmektedir. Açığa çıkan hidrojen peroksitlerin mavi-mor renk yoğunluğu plazma da bulunan NEFA konsantrasyonunu göstermektedir. Açığa çıkan renk yoğunluğu Diaglobal VetPhotometer DP 700 (Diaglobal, Almanya

Distribütörü Genartek, Türkiye) cihazında, 520nm dalga boyunda spektrometrik ölçüm ile tespit edilmektedir. Bu bağlamda çalışma kapsamında gerçekleştirilen analizlerde her bir örnek tüpü ile kör ve standart tüpleri küvetlere yerleştirildikten sonra 1000 µL R1 çözeltisi eklenmiştir. Ardından 50 µL standart solüsyonu standart tüpüne, her bir örneğin plazması 50 µL kadar örnek tüplerine ilave edilmiştir. Örnekler 10 dakika inkubasyona bırakılmış ve bekleme süresinin sonunda 500 µL R2 çözeltisi tüm tüplere eklenerek ve 10 dakika daha bekletilmiştir. İnkubasyon süresi dolduktan sonra cihazın NEFA ölçüm bölümünde ilk olarak kör tüp '0' olarak okutulmuştur. Ardından standart tüpü ile absorpsiyon işlemi sağlanmıştır. Standart ve kör tüplerin okutulmasından sonra sırası ile örnekler ardışık olarak cihazın haznesine yerleştirilerek NEFA sonuçları elde edilmiştir.

#### Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirme aşamasında ise, üzerinde durulan özellikler arasında hem olası ilişkilerin hem de farklılıkların ortaya konulmasında uygun istatistik metotlardan yararlanılmıştır. Bu noktadan hareketle; çalışmada elde edilen verilerin analizi tekrarlanan ölçümlü deneme modeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Söz konusu model aynı birey üzerinde belirli bir zaman süreci içerisinde, bağımsız değişkenler için birçok kez ölçüm alınması durumunda söz konusudur (Göncü, 2000). Buna ilişkin istatistik model aşağıdaki gibidir:

$$Y_{ijklmn} = \mu + a_i + b_j + ls_k + Vks_l + d_m + Vks d_{lm} + \pi_{n(l)} + d\pi_{mn(l)} + e_{ijklmn}$$

$Y_{ijklmn}$ : i. işletmedeki, j. yaş grubundaki, k. laktasyon sırasındaki, VKS'nin l. halindeki, m. dönemindeki, n. ineğin buzağılama öncesi esterleşmemiş yağ asidi konsantrasyonu (NEFA),

$\mu$ : populasyon ortalaması,

$a_i$ : i. işletmenin etkisi (i: 1, 2, 3)

$b_j$  : j. yaş grubunun etkisini (j: 4, 5, 6),  
 $l_{sk}$  : k. laktasyon sırasının etkisini (k: 2,3,4, 5,6),  
 $vks_l$ : l. vücut kondisyonu sınıfının etkisi (l:  $2 < VKS < 3$ ,  $2 < 3 < VKS < 4$ ,  $3 < 4 \leq VKS$ ),  
 $d_m$ : m. dönemin etkisi (m:1, 2)  
 $\pi_{n(l)}$ : Vks faktörünün l.seviyesindeki yer alan deney ünitesinin rastgele etkisi  
 $vks_{d_{lm}}$ : interaksiyon etkisi,  
 $d\pi_{mn(l)}$ : vks faktörünün l.seviyesinde yer alan d faktörü ile deney ünitesi arasındaki

## Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hayvanlara ait kan örneklerinden elde edilen esterleşmemiş yağ asidi konsantrasyonlarına (NEFA) ilişkin bulgulara Tablo 1’de yer verilmiştir.

Kuru dönemin son günlerine ve buzağılama öncesinin son 2 haftasına denk gelen pre-partum döneminde yapılan ölçümlerde NEFA konsantrasyonu  $0.48 \pm 0.089$  mmol/L olarak, buzağılama sonrası 0 ile 15 günlük süreçte ise  $1.01 \pm 0.189$  mmol/L olarak tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen ölçümlerde buzağılama sonrası NEFA konsantrasyonunda ciddi bir yükseliş olduğu görülmektedir.

Çalışmada buzağılama öncesi ve buzağılama sonrası dönemlerde VKS gruplarına göre NEFA konsantrasyonundaki değişimler **Tablo 2**’de özetlenmiştir.

Tablo 2 incelendiğinde buzağılama öncesi dönemde VKS’nin 1. haline karşılık gelen ( $2 < VKS < 3$  aralığında) hiçbir hayvanın bulunmadığı görülmektedir. Bu durum, grupların belirlenme aşamasının daha önceden de belirtildiği gibi tesadüfi ve kura atışıyla gerçekleştirilmesine rağmen gebeliğin son dönemine çalışma materyalinin 3.25 ile 4.25 aralığında bir VKS ile girmesinden kaynaklanmaktadır.

interaksiyon etkisini ve  $e_{ijklmn}$ : hata terimini ifade etmektedir.

Çalışmadan ele alınan özelliklere ait tanımlayıcı istatistiklerin belirlenmesinde ve varyans analizinde SPSS (SPSS, 2009) isimli programlardan, alt grupların çoklu karşılaştırmalarında ise Duncan Testinden yararlanılmıştır (Duncan, 1995). Buzağılama öncesi ve sonrası VKS ile NEFA değerleri arasındaki korelasyonlar Pearson Korelasyon testi yardımıyla hesaplanmıştır (SPSS, 2009).

Vücut kondüsyon skoru sınıflarına göre NEFA ortalamalarındaki değişimler incelendiğinde, buzağılama öncesi dönemde esterleşmemiş serbest yağ asidi konsantrasyonlarının  $0.52 \pm 0.104$  mmol/L ile  $0.35 \pm 0.149$  mmol/L değerleri aldığı görülmektedir. Buzağılama sonrası dönemde ise vücut kondisyonu artan ineklerde NEFA değerlerinde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Esterleşmemiş serbest yağ asidi konsantrasyonları üzerine VKS etkisi değerlendirildiğinde ise istatistik bakımdan önemli bir ilişkiye rastlanmamıştır ( $P > 0.05$ ). Aynı durum Dönem X Grup interaksiyonu içinde geçerli olmuştur ( $P > 0.05$ ).

Esterleşmemiş yağ asidi konsantrasyonu üzerine diğer faktörlerin etkileri araştırıldığında, buzağılama öncesi dönemde yapılan NEFA ölçümleri üzerine işletme faktörünün etkisi istatistik bakımdan önemli ( $P < 0.01$ ), yaş ve laktasyon sırasının olası etkileri ise önemsiz ( $P > 0.05$ ) bulunmuştur. Buzağılama sonrası NEFA ölçümleri için benzer bir değerlendirme yapıldığında ise, işletme, yaş ve laktasyon sırasının etkileri istatistik bakımdan önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ).

Buzağılama öncesi ve sonrası dönemlerde gerçekleştirilen NEFA ölçümleri arasındaki farkların

genel ortalaması  $-0.47 \pm 0.244$  mmol/L, VKS'ler için ise  $0.27 \pm 0.04$  VKS olarak bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında buzağılama sonrası dönemde esterleşmemiş yağ asidi konsantrasyonlarında ortalama  $0.47$  mmol/L'lik bir artış olurken, VKS'de ise doğum sonrasında çok ciddi bir kondisyon kaybı olmadığı tespit edilmiştir.

VKS ile NEFA arasındaki korelasyonlar daha önceden de belirtildiği gibi Pearson Korelasyon Testi yardımıyla hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucunda VKS ile NEFA arasında düşük ve negatif yönlü bir korelasyon ( $-0.24$ ) saptanmıştır ( $P > 0.05$ ).

**Tablo 1. Ortalama Yağ Asidi Konsantrasyonuna Ait Tanımlayıcı İstatistikler**

**Table 1. Descriptive statistics of mean fatty acid concentrations**

Dönemler	N	NEFA (mmol/L)		
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	En düşük	En yüksek
Buzağılama öncesi -2 hafta; 15±2. günlerde	21	$0.48 \pm 0.089$	0.03	1.78
Buzağılama sonrası +2. haftada; 15±3. günlerde	21	$1 \pm 0.189$	0.01	3.00

a,b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , Ö.D: Önemli Değil

**Tablo 2. Dönemler İçi VKS Sınıflarına Göre Ortalama Esterleşmemiş Serbest Yağ Asidi Konsantrasyonuna Ait Tanımlayıcı İstatistikler**

**Table 2. Descriptive Statistics for Mean Non-Esterified Free Fatty Acid Concentration by BCS Classes in the Periods**

Dönemler	VKS sınıfları	N	NEFA (mmol/L)	p
Buzağılama öncesi -2 hafta; 15±2. günlerde	3<VKS<4	17	$0.52 \pm 0.104$	Ö.D
	4≤VKS	4	$0.35 \pm 0.149$	Ö.D
Buzağılama sonrası +2. haftada; 15±3. günlerde	2<VKS<3	4	$0.91 \pm 0.646$	Ö.D
	3<VKS<4	14	$0.93 \pm 0.230$	Ö.D
	4≤VKS	3	$1.15 \pm 0.462$	Ö.D

a,b,c: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ , Ö.D.: Önemli Değil

## Tartışma ve Sonuç

Vücut kondisyon skorundaki değişimler ile NEFA, geçiş dönemi boyunca lipomobilizasyonu ölçmek için iyi göstergelerdir (Chapel vd., 2017). Geçiş dönemindeki süt sığırlarında enerji gereksinimi (süt üretimi için gerekli olan) enerji alınımını aştığı zaman NED

karşımıza çıkmaktadır (Arslan ve Tufan, 2015). Buzağılama öncesi dönem süresince süt ineklerinin enerji durumu sıklıkla değerlendirilmekte olup bu durum enerji gereksinimleri ile enerji alımları dengesine dayanmaktadır (Grummer ve Rastani, 2003).

Serum NEFA düzeyinin yükselmesi postpartum süt sığırlarında NED'in göstergelerinden biridir. NED'in diğer göstergeleri; plazma beta-hidroksibütirat seviyedeki artış, plazma glukoz konsantrasyonunda, insülin ve insülin büyüme faktöründe, plazma leptin konsantrasyonundaki azalış ile karaciğerde triasilgliserol birikimine bağlı yağlı karaciğer (Drackley, 1999) ve vücut kondisyon skorunda düşüş olarak sayılabilmektedir.

Çalışmamızda, NEFA konsantrasyonu buzağılama öncesi süreçte  $0.48 \pm 0.089$  mmol/L (0-15 gün) ve buzağılama sonrası 0 ile 15 günlük süreçte ise  $1.01 \pm 0.189$  mmol/L olarak hesaplanmıştır. Chalmeh vd., (2015) çalışmalarında erken laktasyondaki NEFA konsantrasyonunu  $0.34 \pm 0.01$  mmol ve geç laktasyonda ise  $0.24 \pm 0.01$  mmol olarak tespit etmişlerdir. Sheehy vd., (2016) buzağılama öncesi 15 günde vücut kondüsyonundaki artış ya da azalışı ve bu değişimin serum metabolik ve üretimle ilişkisini irdelemişlerdir. Prepartum NEFA konsantrasyonu VKS kaybeden ve kazanan inekler arasında karşılaştırılmış ve her iki grupta Mulligan vd., (2016) tarafından prepartum negatif metabolik durum ve serum konsantrasyonunu gösteren  $0.4$  mmol/L ve postpartum için  $0.7$  mmol/L eşik değerini geçtiği tespit edilmiştir. Bu bağlamda, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular da Sheehy vd., (2016) 'nın bulgularına benzerlik göstermiştir. Serum NEFA konsantrasyonları laktasyonun erken dönemi süresince prepartum değerlerine göre yüksek seyir etmiştir. Chapel vd., (2017)'nin çalışmalarında da benzer şekilde prepartum dönemde VKS'si  $3.75$  ve daha yukarıda olan ineklerin serum NEFA değerleri  $0.495$  mmol/L'den yüksek bulunmuştur.

Barletta vd., (2017) tarafından buzağılama öncesi 21 günden buzağılama sonrası 21 güne kadar olan dönemde 3 farklı VKS grubunda (kondisyon kaybeden, sabit kondisyonlu ve kondisyon kazanmış) NEFA

konsantrasyonları sırasıyla  $0.51$  mmol/L,  $0.45$  mmol/L ve  $0.42$  mmol/L olarak bulunmuş olup, özellikle buzağılama sonrası 7 günde NEFA konsantrasyonlarında yükselme gözlenmiştir.

Sheehy vd., (2016) buzağılama öncesi 15 günlük periyotta VKS kaybeden ineklerde kondüsyon artışı olan diğer hayvanlara nazaran NEFA konsantrasyonunda yükselme eğilimi olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise buzağılama sonrası 15 günlük dönemde VKS artışına paralel olarak NEFA konsantrasyonlarında bir artış söz konusu olmuştur.

Buzağılama öncesi ve sonrası dönemde görülen VKS değişimleri, ineklerin genotipleri ile sürü yönetim sistemine bağlı olarak işletmeden işletmeye farklılık göstermektedir (Sheehy vd., 2016) Çalışmamızda her iki dönemde yapılan değerlendirmeler sonucunda elde edilen VKS'ler arasında  $0.27$ 'lik bir düşüş söz konusu olmuştur. Söz konusu azalma, Sheehy vd., (2016)'nın çalışmalarında ise  $0.29$  birim olarak bildirilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla, yakın kuru dönem olarak adlandırılan ve beklenen buzağılama tarihinden önceki son üç haftayı içine alan dönemde VKS kaybı olan ineklerin metabolik durumunu ile erken laktasyon üretkenliği arasındaki ilişkiyi açıklayan herhangi bir literatür bulunmamaktadır. Söz konusu süre zarfında VKS kaybı, yetersiz beslenme veya kötü yönetim sebebiyle veya geç kuru dönemde uygulanan kontrollü enerji besleme stratejisi nedeniyle ortaya çıkabilmektedir (Dann vd., 2006; Roche, 2006; Cardoso vd., 2013). Pre ve postpartumdaki metabolik durum ve üretim parametreleri üzerine geçiş dönemindeki VKS kaybının postpartumdaki sonuçları bilinmemektedir (Sheehy vd., 2016).

Literatürde yüksek postpartum NEFA konsantrasyonunun üretim (McArt vd., 2013), üreme (Leroy vd., 2008) ve sağlık (Hammon vd., 2006)



açısından olumsuz sonuçlara yol açtığı ile ilgili birçok rapor olduğu göz önüne alındığında, özellikle prepartum dönemde BCS kaybının da bu tarz sonuçlara sebebiyet vermesi dikkat çekicidir (Sheehy vd., 2016). Keza, uzak kuru dönemde kontrollü bir beslenme stratejisinin (günlük gereksinimlerin %80 ile %100'ü) postpartum dönemdeki serum NEFA konsantrasyonları üzerine önemli bir azalmaya neden olduğu, ancak yakın kuru dönemde kontrollü enerji diyetleri ile beslemenin buzağılama öncesi serum NEFA konsantrasyonlarını yükselttiği bildirilmiştir (Cardoso vd., 2013; Drackley ve Cardoso, 2014).

Benzer şekilde, Keogh vd., (2008) tarafından gebeliğin son döneminde düşük ya da yüksek enerjili beslenen ineklerin postpartum periyodunda serum NEFA konsantrasyonlarında artış eğilimi olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da buzağılama sonrası dönemde serum NEFA konsantrasyonunda ortalama 0.47 mmol/L'lik bir artış söz konusu olmuştur.

## Kaynaklar

**Amaral-Phillips, DM. (2010).** Tools for diagnosing nutritional problems in dairy herds, [https://afs.ca.uky.edu/files/tools\\_for\\_diagnosing\\_nutritional\\_problems\\_in\\_dairy\\_herds.pdf](https://afs.ca.uky.edu/files/tools_for_diagnosing_nutritional_problems_in_dairy_herds.pdf). Erişim Tarihi: Şubat 2018.

**Arslan, C., Tufan, T. (2015).** Süt ineklerinin beslenmesi I. Bu dönemde görülen fizyolojik, hormonal, metabolik ve immünojenik değişiklikler ile beslenme ihtiyaçları. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 16(1), 151-158.

**Ayaşan, T., Asarkaya, A., Hızlı, H., Gök, K., Tekgül, A., Karakozak, E., Kara, U., Seğmenoğlu, M.S., Çoban, S., Mutlu, H., Kılıçalp, N. (2012).** Siyah Alaca ineklerde vücut kondisyon skorunun embriyo kalitesine etkisi. Kafkas Univ Vet Fak Derg 18(1), 91-94.

Sonuç olarak, literatürel bilgi dahilinde geçiş dönemi ineklerin üretim döngüsünün önemli bir unsuru olduğu muhakkaktır. Bu çalışmada, buzağılama öncesi 15 günlük dönemdeki vücut kondisyonundaki artışın yanı sıra serum NEFA konsantrasyonu ile arasında istatistiksel öneme haiz olmayan negatif bir ilişki olduğu, buzağılama sonrası dönemde ise vücut kondisyonundaki artış ile serum NEFA konsantrasyonundaki artışın paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürde belirtildiği gibi, buzağılama öncesi 15 günlük süreçte vücut kondisyon kaybı olan ineklerin potansiyel üretim ve sağlık durumlarında azalmaya neden olacağına işaret edilmiştir. Bu noktadan hareketle, farklı fizyolojik yapı sergileyen ineklerin mevcut metabolik profili değerlendirilerek enerji dengelerinin tespit edilmesi ve bu şekilde bazı metabolik ve üretim problemlerinin önüne geçilmesi mümkün olabilir.

## Teşekkür

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (BAP No: BOMYO-17001) desteklenmiştir.

**Barletta, R.V., Maturana, M., Carvalho, PD., Del Valle, T.A., Netto, A.S., Rennó, F.P., Mingoti, R.D., Gandra, J.R., Mourão, G.B., Fricke, P.M., Sartori, R., Madureira, E.H., Wiltbank, M.C. (2017).** Association of changes among body condition score during the transition period with NEFA and BHBA concentrations, milk production, fertility, and health of Holstein cows. Theriogenology, 104, 30-36.

**Bellows, D.S., Ott, S.L., Bellows, R.A. (2002).** Review: Cost of reproductive disease, and conditions in cattle. The Prof Anim Sci, 18, 26-32.

**Bobbe, G., Young, J.W., Beitz, D.C. (2004).** Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. J Dairy Sci, 87, 3105-3124.



- Butler, W.R. (1998).** Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 81, 2533-2539.
- Butler-Hogg, B.W., Wood, J.D., Bines, J. (1985).** Fat partitioning in british friesian cows: the influence of physiological state on dissected body composition. *J Agric Sci*, 104, 519-528.
- Cardoso, F.C., LeBlanc, S.J., Murphy, M.R., Drackley, J.K. (2013).** Parturition nutritional strategy effects reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci*, 96, 5859–5871.
- Chalmeh, A., Pourjafar, M., Nazifi, S., Momenifar, F., Mohamadi, M. (2015).** Circulating Metabolic Profile of High Producing Holstein Dairy Cows. *J Fac Vet Med Istanbul Univ*, 41(2), 172-176.
- Chapel, J.M., Rumino, R., Pereira, V., Benedito, J.L. (2017).** Relationship of BCS parturition with reproductive performance and lipomobilization in Holstein dairy cows. *Pak Vet J*, 37(2), 215-219.
- Coşkun, B. (1997).** Süt ineklerinin beslenmesi. In: Şeker E., İnal F. (ed's). *Hayvan Besleme*. 1st ed. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, 1-59.
- Çitil, M., Uzlu, E. (2005).** Sığırlarda doğum sonrası hastalıkların erken tanısında ultrasonografik yöntemle vücut kondisyon skor tayinin önemi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(2), 201-206.
- Dann, H.M., Litherland, N.B., Underwood, G.P., Douglas, G., Drackley, J.K. (2006).** Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. *J Dairy Sci*, 89, 3563-3577.
- Defra (2001).** Condition scoring of dairy cows. *Animal Health and Welfare*, Department of Environment, Food and Rural Affairs, 1-12. [www.defra.gov.uk/corporate/publications/pubf rm.htm](http://www.defra.gov.uk/corporate/publications/pubf rm.htm), 2001.
- Drackley, J.K. (1999).** Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?. *J Dairy Sci*, 82, 2259-2273.
- Drackley, J.K., Cardoso, F.C. (2014).** Parturition and postpartum nutritional management to optimise fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. *Anim*, 8, 5–14.
- Duncan, D.B. (1995).** Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11, 42.
- Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T., Webster, G. (1989).** A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 72, 68-78.
- Gibb, M.J., Ivings, M.E., Dhanoa, M.S., Sutton, J.D. (1992).** Changes in body components of autumn-calving Holstein-Friesian cows over the first 29 weeks of lactation. *Anim Product*, 55, 339–360.
- Gillund, P., Reksen, O., Gröhn, Y.T., Karlberg, K. (2001).** Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *J Dairy Sci*, 84, 1390-1396.
- Gong, J.G. (2002).** Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: Practical Implications. *Domest Anim Endocrinol*, 23, 229-241.
- Görgülü, M., Göncü, S., Serbestler, U., Kıyma, Z. (2011).** Süt sığırlarının üremesinde beslemenin rolü. 7. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Adana.
- Göncü, S. (2000):** Adana Entansif Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Yetiştirilen Saf ve Melez Siyah Alaca İnek Sütlerinde Somatik Hücre Sayısına Etki Eden Faktörler ve Mastitis ile İlişkisi. Doktora Tezi
- Adana.Grummer, R.R., Rastani, R.R. (2003).** When should lactating cows reach positive energy balance? *Prof Anim Sci*, 19, 197-203.
- Gumen, A., Keskin, A., Yilmazbas-Mecitoglu, G., Karakaya, E., Wiltbank, M.C. (2011).** Dry period management and optimization of postpartum reproductive management in dairy cattle. *Reproduction of Domestic Animals*, 46, 11–17.
- Hammon, D.S., Evjen, I.M., Dhiman, T.R., Goff, J.P. (2006).** Neutrophil function and energy status in Holsteins cows with uterine health disorders. *Vet Immunol Immunopathol*, 113, 21–29.
- Kadokawa, H., Martin, B.G. (2006).** A new perspective on management of reproduction in dairy cows: the need for detailed metabolic information, an improved selection index and extended lactation. *J Reprod Dev*, 52(1), 61-168.
- Kehrli, M.E., Neill, J.D., Burvenich, C., Goff, J.P., Lippolis, J.D., Reinhardt, T.A., Nonnecke, B.J. (2006).** Energy and protein effects on the immune system. In: Sejrsen K, Hvelplund T, Nielsen MO (Ed's). *Ruminant physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene*

- expression, immunology, and stress. 1st ed. Wageningen, Academic Publishers, 459-61.
- Kellogg, W. (2014).** Body condition scoring with dairy cattle, [http://www.uaex.edu/other\\_Areas/Publications/PDF/FSA-4008.pdf](http://www.uaex.edu/other_Areas/Publications/PDF/FSA-4008.pdf), 1914. Erişim Tarihi: Şubat 2018.
- Keogh, B.K., French, P., Mcgrath, T., Storey, T., Mulligan, F.J. (2008).** Effect of forage allowance and forage system during the dry period on the performance of dairy cows. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 16-19.
- Kim, H.I., Suh, G.K. (2003).** Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in holstein dairy cows. *Theriogenology*, 60, 1445-1456.
- Knop, R., Cernescu, H. (2009).** Effects of negative energy balance on reproduction in dairy cows. *Lucrări Stințifice Medicină Veterinară*, 2, 198-205.
- Komaragiri, M.V.S., Casper, D.P., Erdman, R.A. (1998).** Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 2. effect of dietary fat on mobilization of body fat and protein. *J Dairy Sci*, 81, 169-175.
- LeBlanc, S. (2010).** Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J Reprod Dev*, 56, 29-35.
- Leslie, K., Duffield, T., LeBlanc, S. (2004).** Monitoring and managing energy balance in the transition dairy cow. Minnesota Dairy Health Conference, Bloomington, Minnesota.
- Lopez, H., Satter, L.D., Wiltbank, M.C. (2004).** Relationship between Level of Milk Production and Estrous Behavior of Lactating Dairy Cows. *Anim Reprod Sci*, 81, 209-223.
- Leroy, J., Van Soom, A., Opsomer, G., Bols, P.E.J. (2008).** The consequences of metabolic changes in high-yielding dairy cows on oocyte and embryo quality. *Anim*, 2, 1120-1127.
- McArt, J.A.A., Nydam, D.V., Oetzel, G.R. (2012).** Dry period and parturient predictors of early lactation Hyperketonemia in Dairy Cattle. *J Dairy Sci*, 96(1), 198-209.
- McArt, J.A.A., Nydam, D.V., Oetzel, G.R. (2013).** Overton TR, Ospina PA. Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *Vet J*, 198, 560-570.
- McGuire, M.A., Theurer, M., Vicini, J.L., Crooker, B. (2004).** Controlling Energy Balance in Early Lactation. *Advances in Dairy Technology*, 16, 241.
- Mulligan, F., O'Grady, L., Rice, D., Doherty, M. (2006).** Production disease of the transition cow; body condition score and energy balance. *Ir Vet J*, 59, 505-510.
- Mwaanga, E.S., Janowski, T. (2000).** Anoestrus in dairy cows: causes, prevalence and clinical forms. *Reprod Domest Anim*, 35, 193-200.
- Oltenucu, P.A. (2007).** Health and welfare in genetically high producing dairy cows and its economical implications. XIII ISAH Congress, Tortu, Estonia.
- Patton, J., Kenny, D.A., Mee, J.F., O'Mara, F.P., Wathes, D.C., Cook, M., Murphy, J.J. (2006).** Effect of milking frequency and diet on milk production, energy balance, and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci*, 89(5), 1478-87.
- Roche, J.F., Macke,y D., Diskin, M.D. (2000).** Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci*, 60-61, 703-712.
- Roche, J.F. (2006).** The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*, 96, 282-296.
- Roche, J.R., Friggens, N.C., Kay, J.K., Fisher, M.W., Stafford, K.J., Berry, D.P. (2009).** Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J Dairy Sci*, 92, 5769-5801.
- Samanc, H., Danjela, K., Stojic, V., Dragica, S., Vujanac, I., Prodanovic, R., Slavica, B. (2011).** Application of the metabolic profile test in the prediction and diagnosis of fatty liver in Holstein Cows. *Acta Vet Scand*, 61(5-6), 543-553.
- Sheehy, M.R., Fahey, A.G., Aungier, S.P.M., Carter, F., Crowe, M.A., Mulligan, F.J. (2016).** A comparison of serum metabolic and production profiles of dairy cows that maintained or lost body condition 15 days before calving. *J Dairy Sci*, 100, 1-12.
- Silke, V., Diskin, M.G., Kenny, D.A., Boland, M.P., Dillon, P., Mee, J.F., Sreenan, J.M. (2002).** Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 71, 1-12.

- Silvia, W.J. (1998).** Changes in reproductive performance of holstein dairy cows in Kentucky from 1972 to 1996. *J Dairy Sci*, 81(1), 244.
- Suriyasathaporn, W., Daemen, A.J.J.M., Noordhuizen-Stassen, E.N., Dieleman, S.J, Nielen, M., Schukken, Y.H. (1999).**  $\beta$ -Hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Vet Appl Environ Microbiol*,v68, 177-186.
- SPSS (2009).** SPSS release 18.0.0, Standard version for windows. Steel RDG, Torrie JH Principles and procedures of statistics. Mc-Graw Hill Book Co. Inc. ; New York, USA.
- Tamminga, S., Luteijn, P.A., Meijer, R.G.M. (1997).** Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livest Prod Sci*, 52, 31-38.
- Vanholder, T., Papen, J., Bemers, R., Vertenten, G., Berge, A.C.B. (2015).** Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *J Dairy Sci*, 98(2), 880-888.
- Varışlı, Ö., Tekin, N. (2011).** Holştayn ineklerde vücut kondisyon skorunun fertilitate ve bazı reproduktif parametrelere etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 58, 111-115.
- Yaylak, E., Kaya, A. (2000).** Süt sığırcılığında vücut kondisyon puanı ve önemi. *Hayvansal Üretim*, 41, 29-37.
- Washburn, S.P., Silvia, W.J., Brown, C.H., McDaniel, B.T., McAllister A.J. (2002).** Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI Herds. *J Dairy Sci*, 84, 244-251.
- Wiltbank, M., Lopez, H., Sartori, R., Sangsritavong, S., Gumen, A. (2006).** Changes in Reproductive Physiology of Lactating Dairy Cows due to Elevated Steroid Metabolism. *Theriogenology*, 65, 17-29.

## Interpretation of Serum 25-Hydroxy Vitamin D3 Concentrations in Sheep with Naturally Occuring Sarcoptic Mange

### Abstract

Sarcoptes scabiei is probably the most common mite species in domestic animals. There is lack of evidence showing the current status of vitamin d reserves in sarcoptic mange infested sheep. Therefore the aim of the present study was to analyze serum 25 hydroxy vitamin D3 (25 OH D3) concentration among sheep with scabies. Microscopical examination of deep skin scrapings to those of 28 sheep presenting alopecia, crusting, lichenification and scaling showed presence of sarcoptic mange. Serum 25 OH D3 levels among infested sheep showed a statistically significant difference in sheep with sarcoptic mange (group I  $25.53 \pm 13.30$  mg/dl) in contrast to group II (n=14) control sheep ( $84.70 \pm 21.11$  mg/dl). In conclusion vitamin d deficiency must be taken into consideration

**Key Words:** Sheep, Sarcoptic Mange, Vitamin D

### Research Article

Kerem Ural<sup>1</sup>  
Recai Tunca<sup>2</sup>  
Deniz Aliç Ural<sup>3</sup>  
İlker Çamkerten<sup>4</sup>  
Hasan Erdoğan<sup>1</sup>  
Adnan Ayan<sup>5</sup>  
Mehmet Gültekin<sup>1</sup>  
Ali Evren Haydardedeoğlu<sup>4</sup>  
Nuran Aysul<sup>6</sup>  
Songül Erdoğan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary  
Medicine, Department of  
Internal Medicine, Adnan

<sup>2</sup>Faculty of Veterinary  
Medicine, Department of  
Patology, Adnan Menderes  
University

<sup>3</sup>Faculty of Veterinary  
Medicine, Faculty Farm, Adnan  
Menderes University

<sup>4</sup>Faculty of Veterinary  
Medicine, Department of  
Internal Medicine, Aksaray  
University

<sup>5</sup>Faculty of Veterinary  
Medicine, Department of  
Genetics, Van Yüzüncü Yıl  
University

<sup>6</sup>Faculty of Veterinary  
Medicine, Department of  
Parasitology, Adnan Menderes  
University

### Correspondence

Kerem URAL  
uralkerem@gmail.com

### Article Info

Received: 05-04-2018

Accepted: 27-04-2018

## Introduction

Small ruminants are well recognized as to modify to unpleasantly rough conditions. Indeed the mounting effects of overcrowding, nutritional deficiency and several diseases might result with economic losses (Tilahun, 1995). Among the diseases of sheep, mange mites are one of the most important economic loss reason in relation to integumentary system and block export due to morphological defects (Woldemeskel, 2000). Mange mite infestations are contagious dermatological disease, causing reduced meat quality because of skin damage reflected by pruritus, alopecia, hyperkeratosis with lesions initially located on the head and neck, weight loss, irritation and death in severe cases (Rao and Naidu, 1999). The distribution of mites on affected small ruminants alter according to season (Urquhart et al., 1996) and the vast majority of outbreaks exist in cold months (Neog et al., 1992). Mange mites extend via direct contact among sheep, also in ewe to lamb, during sucking (Schmidt, 1994).

The vast majority of mange infestation is caused by 4 different types of mites such as sarcoptic, psoroptic, chorioptic and demodectic (Radostits et al., 1994). Among sheep, *Sarcoptes* spp. is the foremost reason of mange causing dermatitis and primary/secondary skin lesions along with pruritis [sheep lost grazing time and general body condition]. Afterwards vesicles, papules, thickening of the skin and scabs occur (Radostits et al., 1994). Vitamin D levels has not previously been analyzed in sheep with sarcoptic mange, which promptly motivated present authors hypothesizing that vitamin D levels might be altered in this disease. Therefore the purpose of the present study was to detect serum 25 OH D3 levels among infested sheep with sarcoptic mange.

## Material and Methods

Twenty eight sheep of both sexes (n=11 female, n=17 male) were presented to Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine with the history of alopecia, scaling and crusting on both ears and face. On detailed examination the affected area was intensely excoriated [itching, scratching and biting along with self trauma]. Furthermore alopecia, thick brown/whitish scabs and thickened skin were observed. The lesions were evident on the ear, nose and mouth (Figure 1.).



Figure 1: Facial lesions in naturally infected sheep with *S. Scabiei*.

Diagnosis of sarcoptic mange was based on a) deep skin scrapings (n=28) were collected from lesional sides (face and ear lesions) in 10 % NaOH, brought to the Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary, Adnan Menderes University and b) by 6 mm skin punch biopsy and c) acetate tape impression for lesional sites not suitable for skin scraping i.e. periocular area for mite examination. Study population enrolled were I. group involved 28 sheep with sarcoptic



mange whereas II. group composed of control animals (n=14) without apparent clinical signs. Serum 25 OH D3 levels were detected by Savant Point of care immunochromatography device (China).

### Statistical Analysis

All datas were stated as mean and standard deviation of mean and the normality of data was determined via Komorrov- Simirnov analyses. In an attempt to make comparison, Mann-Whitney U test was performed to determine the differences between infested and healthy groups. p value <0,05 was considered statistically significant and SPSS (22.0 IBM, Chicago) statistical package was performed for all analyses.

### Results

#### Clinical signs

The vast majority of sheep (belonging to 3 different sheep flocks from Eagean region of Turkey, regarding Aydin Municipality), at the age of 2 to 4 years of age, of both sexes (n=15 male, n=13 female), Observed clinical signs, as detected by regular flock visits and field study, of the flocks infested with sarcoptic mite showed exfoliative dermatitis, scaling and crusting along with intense pruritus (n=27), self-trauma (n=13) and loss of wool (n=26). Entire lesions existed in non-woolly skin of the body mainly detected on to the face, similar to what have been described elsewhere (Al-Shebani et al., 2012; Iqbal et al., 2015; Kaufman et al., 2009). Primary/secondary skin lesions (Ural, 2014) detected were as follows; alopecia, erythema, severe crusting near the mouth (lips, nostrils) spreading to other parts of the head, face and ears. Severe cases showed excoriation (i.e. self-trauma due to itching), wool loss, thickened brown scabs and wrinkling of the surrounding skin (Iqbal et al., 2015).

#### Microscopical examination results

The microscopic examination of skin scrapings revealed *S. scabiei* mites (in all sheep enrolled) based on its morphological characteristics (Figure 2.) as differentiated by rounded mouth parts, short posterior legs along with the existence of empodial claws and pulvillus on first 2 pairs of legs, occurrence of transverse ridges on dorsal surface of the body and finally excluding eyes/stigmata, previously detected by (Wall and Shearer, 2001), and reported similarly to (Murthy et al., 2013).



Figure 2: Affected sheep, lesional site (auricular area) as skin scraping was detected showing characteristic appearance of *S. scabiei*.

#### Serum 25 oh d3 levels among infested sheep

Mean  $\pm$  sd values for serum 25 oh D3 levels among infested sheep were shown in table 1. There was a statistically significant difference found in sheep with sarcoptic mange (group I) in contrast to group II control sheep.

**Table 1. Mean  $\pm$  sd values for serum 25(OH)D3 levels among infested sheep**

	Sheep with sarcoptic mange (n=28)	Healthy sheep (n=14)
Vitamin D3	25,53 $\pm$ 13,30	84,70 $\pm$ 21,11
P value	0,000	



## Discussion

Given the sarcoptic mange classically associated with nutritional deficiencies (i.e. poor feeding) and overcrowding (Iqbal et al., 2015), similar management problems were observed in 3 different sheep flocks enrolled in the present study. This might be briefly discussed as vitamin d deficiency might play a role within the occurrence of sarcoptic mange infestation among sheep. Inflammation take participation in several chronic diseases and questions aroused about the influence of vitamin D deficiency on inflammatory processes (Mangin et al., 2014). Researches found an association between inflammation and low serum 25-hydroxyvitamin D3 [25(OH)D3] (Meckel et al., 2016; de Souza et al., 2016), which might be associated with sarcoptic mite infestation in sheep of this study. In sheep, *Sarcoptes scabiei* var. *ovis* is rare and affects only sparsely haired parts of the body such as face and ears (Solusby, 1982; Bates, 2000; Radostits et al., 1994, Wall and Shearer, 2001). The tunneling activities of these mites cause intense itching and scratching leading to the development of sores and scabs. Similarly all enrolled sheep presented crusting and alopecia on facial area.

Vitamin D deficiency has been well recognized to associate with the occurrence of several human diseases. However according to the present authors' knowledge currently no available evidence suggested how natural sarcoptic mange infestation directly acts on variation in vitamin D metabolism due to a total lack of studies in sheep. On the other hand some previous studies evaluated vitamin d levels in sheep other than mange infestation. In a prior study 14 sheep with caseous lymphadenitis revealed significantly ( $p < 0.001$ ) lower ( $29.56 \pm 0.79$ ) serum 25(OH) levels in contrast to 10 healthy (control group) sheep (with higher levels  $41.13 \pm 1.20$ ) (Basbug et al., 2014). A prior investigation

included rickets in nursing lambs with Vitamin D deficiency as the cause, [as detected by serum vitamin D concentrations between 0.4-30 ng/mL (reference:  $> 30$  ng/mL) (Van Saun, 2004). Another study reported plasma 25(OH)D3 levels, lower in lambs ( $3.95 \pm 1.4$  ug/L) than in ewes ( $15.7 \pm 5.9$  ug/L) 1, 3 mean + sem,  $n=8$ ) (Caple et al., 1988). In the present study a significant difference was found among diseased sheep infested with sarcoptic mange ( $p=0,000$ ).

Inflammation is relied as a contributing factor in the vast majority of chronic disorders. The influence of vitamin D deficiency on inflammation has recently been investigated whereas researches have not demonstrated a causative effect.

Proinflammatory cytokine expression might be a key factor within the pathogenesis of scabies, which could briefly denote inflammation within this infestation. Prior research denoted that IL1 $\beta$  could arouse via integumenter inflammation as a consequence of physical stimuli of the burrowing mites (Portugal et al., 2007). On the other hand immunology of sarcoptic mange infestation still remains unclear. In addition host immune respond in early scabies presented a nonprotective TH2 allergic response, whereas in late scabietic cases a TH1 cell-mediated protective response was involved (Al-Musawi et al., 2014). Vitamin D has been denoted as an immune system regulator (Cantorna 2006). Furthermore 1,25dihydroxycholecalciferol, a well known active metabolite of vitamin D modulates T-cell mediated immunity (Yang et al., 1993a; Yang et al., 1993b). All those aforementioned contributing factors might be briefly explain the pathogenesis of sarcoptic mange and related vitamin d deficiency observed in the present study.

Regarding different animal species sarcoptic mange (*S. scabiei* infestation) cause adaptive and/or inflammatory

immune responses following 4 to 6 weeks after acquaintance with mite (Morgan et al., 2013; Cote et al., 2013). The rash and itch in relation with scabies may be characterized by both type I and type IV, immediate and delayed, respectively, hypersensitivity reactions (Sajad et al., 2017). All involved sheep with vitamin deficiency presented severe itching and self trauma in the present study.

In conclusion vitamin D deficiency must be taken into consideration in scabietic sheep. Vitamin D therapy should definitely be added at the correct doses in sheep with scabies.

### Acknowledgments

This study was funded by Adnan Menderes University Research Project Funding Unit with project no: VTF-17040.

### Kaynaklar

- Al-Shebani, M.A.A., Dawood, K.A., Jassem, G.A. (2012).** Epidemiological and identification study of mange mites infestation in sheep in Al-Diwaniyah province. *AL-Qadisiya J Vet Med Sci*, 11(1), 20–27.
- Arliaann, L.G. (1989).** Biology, host epidemiology scabie relations, and of sarcoptes. *Ann Rev Entomol*, 34, 139–159. Doi: 10.1146/annurev.en.34.010189.001035.
- Başbuğ O, Tuzcu N, Ercan N., Aydoğdu U, Oğrak YZ. (2014).** Serum Vitamin D Levels in Sheep with Caseous Lymphadenitis. *F Ü Sağ Bil Vet Derg.* 28 (2): 77 -80.
- Bates, P.G. (2000).** Ectoparasites. In: Marten WB, Aitken ID, (Ed's). *Diseases of sheep*. Oxford, Black well, 205–296.
- Caple, I.W., Babacan, E., Pham, T.T., Heath, J. A., Grant, I. M., Vizard, A.L., Allworth, M.B.** Seasonal vitamin D deficiency in sheep in south-eastern Australia. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, Sydney, 1988, 17.
- Cote, N.M., Jaworski, D.C., Wasala, N.B., Morgan, M.S., Arlian, L.G. (2013).** Identification and expression of macrophage migration inhibitory factor in *Sarcoptes scabiei*. *Exp Parasitol*, 135(1), 175–181.
- de Souza, W.N., Norde, M.M., Oki, É., Rogero, M.M., Marchioni, DM., Fisberg, R.M., Martini, L.A. (2016).** Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, São Paulo, Brazil. *Nutr Res*, 36(1), 1-8.
- Iqbal, A., Baba, M.A., Shah, M., Mushtaq, I., Sakina, A., Wani, S. (2015).** Treatment of mange infection in a weaner flock of sheep with ivermectin at sheep breeding farm Hardishiva of Kashmir valley., 39(2), *J Parasit Dis*, 171-173.
- Kaufman, P.E., Koehler, P.G., Butler, J.F. (2009).** External parasites of sheep and goats ENY-273 (IG129). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1–14. <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Cantorna, M.T. (2006).** Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease *Prog Biophys Mol Biol*, 92, 60-64.
- Al-Musawi, M.M., Hasan, H.R., Maluki, A.H. (2014).** Relationship between TH1, TH2 Immune Responses and Serum SOD Activity In Scabies. *J Adv Biomed Pathobiol Res*, 4(1), 1-15.
- Mangin, M., Sinha, R., Fincher, K. (2014).** Inflammation and vitamin D: the infection connection. *Inflamm Res*, 63(10), 803-819.
- Meckel, K., Li, Y.C., Lim, J., Kocherginsky, M., Weber, C., Almoghrabi, A., Cohen, R. D. (2016).** Serum 25-hydroxyvitamin D concentration is inversely associated with mucosal inflammation in patients with ulcerative colitis, 2. *Am J Clin Nutr*, 104(1), 113-120.
- Morgan, M.S., Arlian, L.G., Markey, M.P. (2013).** *Sarcoptes scabiei* mites modulate gene expression in human skin equivalents. *PLoS One*, 8(8), 71143.
- Murthy, G. S. S., Nagesha, A. M., Hemanna Gowda, K. (2013).** Therapeutic management of sarcoptic mange in a sheep flock. *J Parasit Dis*, 37(2), 281–282.
- Neog, R., Borkakoty, M.R., Lahkar, B.C. (1992).** Mange mite infestation in sheep in Assam. *Ind Vet J*, 69, 891–893.
- Portugal, M., Barak, V., Ginsburg, I., Kohen, R. (2007).** Interplay among oxidants, antioxidants, and cytokines in skin disorders: present status and future considerations. *Biomed Pharmacother*, 61, 412-422.

- Radostits, O.M., Blood, D.C., Gay, C.C. (1994).** Veterinary medicine, A text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. London: Bailliere Tindall.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. (2006).** Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. London; Elsevier.
- Rao, D., Naidu, M.M. (1999).** Clinical and haematological observations in goats with sarcoptic mange. *Indian Vet J*, 76, 730–732.
- Yang, S., Smith, C., DeLuca H.F. (1993a).** 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 19-nor-1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub> suppress immunoglobulin production and thymic lymphocyte proliferation in vivo. *Biochim Biophys Acta*, 1158, 279-286.
- Yang, S., Smith, C., Prahl, J.M., Luo, X., DeLuca H.F. (1993b).** Vitamin D deficiency suppresses cell-mediated immunity in vivo. *Arch Biochem Biophys*, 303, 98-106.
- Schmidt, H.W. (1994).** Dogs as transmitter of sarcoptic mange to other domestic animals and man. *Vet Bull*, 22, 643.
- Solusby, L.E.J. (1982).** Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7. Billary Tindell: London.
- Tilahun, G. (1995).** Parasites of small ruminants. In: Gray G, Vilenberg G (Ed's) *Parasitological research in Africa*, 1st Ed. Nairobi, Kenya, 34–67.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Dunlan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, W. (1996).** Veterinary Parasitology. Osneyend: Blackwell.
- Van Saun, R.J. (2004).** Vitamin D-responsive rickets in neonatal lambs. *Can Vet J*, 45(10), 841–844.
- Wall, R., Shearer, D. (2001).** Veterinary ectoparasites: Biology, pathology and control. Blackwell Sciences Limited: Tokyo.
- Woldemeskel, M. (2000).** Dermatophilosis: a threat to livestock production in Ethiopia. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 107, 144–146.

## Feather loss in a budgie

### Case Report

#### Abstract

A 3 years old budgie with the complaint of feather loss and disturbed body growth, was referred to the clinic. In history, it was understood that two offspring showed healthy growth within the first year of their life, then scaling on the skin was observed in one of the budgie's feet. Over the next 3 months the body feathers began to fall. In the hairless regions, new feathers appeared in a cottony look and weak structure. But these new feathers shed before they could finish growing. The food and water appetite had not deteriorated during this time.

In physical examination, there were a few feather in cotton appearance on the body of the budgie. Bird had difficulty in balancing his body while standing and walking. Nowhere in the bird's body has skin lesions. In mycological culture, *Aspergillus* spp. was isolated. Bird died a week after being brought to the clinic.

When the etiology of the disease is assessed in the budgies >3 years old, all feathers have fallen and body development has deteriorated, it has been concluded that it is appropriate to consider chronic diseases which cause weakening of the immune system resulting in diseases such as aspergillosis.

**Key Words:** Budgie, Feather-loss

Arif Kurtdede<sup>1</sup>  
Mehmet Kazim Brk<sup>1</sup>  
Nevra Keskin<sup>1</sup>  
Nurdan Karacan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Veterinary Medicine,  
Department of Internal  
Medicine, Ankara University  
<sup>2</sup> Veterinary Medicine,  
Department of Microbiology,  
Dicle University

#### Correspondence

Arif KURTDEDE  
akurtdede@ankara.edu.tr

#### Article Info

Received: 02-02-2018  
Accepted: 19-03-2018

## **Introduction**

Hair loss in cage birds is a common disorder. It is difficult to identify the causes of primary and secondary causes of hair loss. In the diagnosis, it is important to assess the patient's detailed anamnesis, physical examination of the patient, macro- and micro-examinations of hair and skin specimens in the lesion area, and diagnostic test results (Lawton, 2000; Greenberg, 2006; Rubinstein and Lightfoot, 2014).

In this case report, it was aimed both to emphasize that a budgie was able to survive for 2 years, completely without feather and to comment clinical value of the excess *Aspergillus* spp. growth in the skin surface.

## **Case History**

A budgie was brought to the clinic with the complaint that all the feather on his body had fallen, and it had been in a hairless condition for two years. In the anamnesis, the animal owner said that the growth of two puppy budgies was normal for one year after leaving the egg, then scaling on the skin was observed in one of the budgie's feet. Over the next 3 months the body feathers began to fall. In the hairless regions, new feathers appeared in a cottony look and weak structure. But these new feathers shed before they could finish growing. The sick bird has lived for 2 years without feather and, the food and water appetite had not deteriorated during this time. In the physical examination, the budgie's body had a few cotton feathers in a cotton-like look. It was having difficulty balancing his body while standing and walking. There was no skin lesion anywhere in its body. The skin swap specimen taken from the budgie was cultured in Sabouraud Dextrose Agar and this agar was incubated for 7 days at 25° C under aerobic conditions. Mycological growth began from the fourth day. Culture

sample was stained with Lactophenol cotton blue and examined by light microscopy, and *Aspergillus* spp. was isolated. It was learned that budgie died a week after being brought to the clinic.



Figure 1: A 3 years old budgie.

## **Discussion**

Hair loss in cage birds is a multi-factorial disorder. It occurs in diseases affecting the body, in inappropriate environment and nutritional conditions, and for psychological reasons. Hair replacement disorders can occur as a consequence of illnesses, as well as the lack of proper hair replacement period (Rubinstein and Lightfoot, 2014). In feather-loss birds, it is important to take good anamnesis in order to be successful in treatment and to monitor the effect of medical practices carefully (Greenberg, 2006; Lawton, 2000).

Similar to the descriptions of the researchers (Harris and Oglesbe, 2006), in this case report; the etiology of hair loss that occurred during the age of 1 year in one of the two budgies raised on the same conditions could not be established. Abundant *Aspergillus* spp. grew in the mycological culture of the skin surface swab.

Similar to the case of Psittacine beak and feather disease (Pbfd), which has been shown to result in weakening of the immunizing system resulting from thymus and bursa destruction (Harcourt-Brown, 2000;

Harris and Oglessbe, 2006), in this presentation of the budgie with feather-loss and feather-growth disorder, isolation of the abundant *Aspergillus* spp. in the agar in the skin swap samples, gave us suggestion that in this sick budgie there may be deficiency in the immunity system.

Harris and Oglessbe (2006), have remarked that the chronic form of Pbfd disease is seen in birds under the age of 3, and these budgies have lived for months or years without deteriorating his overall health, and death from Pbfd was the results of secondary bacterial, viral and fungal infections or general health status impairment. With the above explanations, the clinical findings based on the anamnesis information of the budgie in this presentation are compatible.

There were no similarities between the clinical signs of polyomavirus infection (Harris and Oglessbe, 2006) that are the flight feathers-loss, abdominal-crop swelling and subcutaneous bleeding, and the clinical findings in the budgie in this presentation.

As a result, when budgies under 3 years of age exhibits feather-losses and feather development disorders in all body areas, it would be appropriate to take into account the chronic diseases, that causes weakness in the immunization system resulting in the diseases such as Aspergillosis.

## References

- Greenberg, T.B. (2006).** Avian Dermatology. In: Saunders Manual of Small Animal Practice. Birchard SJ, Sherding RG (eds), Third ed. Elsevier Inc. USA, 1758- 1771.
- Harcourt-Brown, N.H. (2000).** Psittacine birds. In: Handbook of Avian Medicine, Tully TN, Dorrisstein GM ve Jones AK (Edts.), second ed. W. B. Saunders, Philadelphia, USA, 112-143.
- Harris, D.J., Oglessbe, B.L. (2006).** Avian Infectious Diseases. In: Saunders Manual of Small Animal Practice.

Birchard SJ, Sherding RG (eds), Third ed. Elsevier Inc. USA. 1740- 1757.

**Lawton, M.P.C. (2000).** The Physical examination. In: Handbook of Avian Medicine, Tully TN, Dorrisstein GM ve Jones AK (Edts.), second ed. W. B. Saunders, Philadelphia, USA, 26-42.

**Rubinstein. J., Lightfoot, T. (2014).** Feather Loss and Feather Destructive Behavior in Pet Birds, Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice, 17(1), 77–101.



## Bir Köpekte Eroziv Ülseratif Stomatitis: Çam Kesesi Böceği Toksikasyonu

Erosiv Ulcerative Stomatitis In A Dog: Pine Caterpillar Toxication

### Özet

Birçok kanatlı ve kelebek türünün yaşayan organizmalarda yangısal reaksiyon meydana getirdiği bilinmektedir. Çam kesesi böceği Lepidoptera familyasının bir üyesidir. Bu familya üyeleri çamlarda yaşamakta ve çam ağaçları, insanlar ve hayvanlara zarar verebilmektedir. Çam ağaçlarının iğne şeklindeki yaprakları ile beslenmesi bitkiler için yaşamı zorlaştırmakta, aynı zamanda bünyelerinde barındırdıkları allerjen özellikleri ile insan ve hayvanlarda sağlık problemlerine neden olmaktadır. Bu çalışmada bir av köpeğinde çam kesesi böceği temasına bağlı olarak gelişen eroziv stomatitis olgusu değerlendirildi.

**Anahtar Kelimeler:** Allerji, Köpek, Stomatit, Çam Kесе Böceği

### Abstract

In living organisms a lot of moths and butterflies are known to produce inflammatory reactions. The pine processionary is member of the Lepidopterans. This family's members lives in pine trees, and damage both the trees, humans, and animals. By feeding on the needles make hard to plants life and also cause health problems with their allergen structure in animals and humans. In the veterinary literature, there are some reports of exposure to PPM caterpillars in dogs, presented with urticarial reactions, angioedema, pruritus and tongue edema, vomiting, necrosis, salivation, lingual and sublingual edema, respiratory distress and the frequent sequel partial loss of the tongue. In this study, a case of erosive stomatitis was evaluated in a hunting dog that developed due to the contact of pine caterpillar.

**Key Words:** Pimobendan, Allergy, Dog, Stomatitis, Pine Caterpillar

### Olgu Sunumu

Yasin Parlatur<sup>1</sup>

Hasan Erdoğan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Adnan Menderes Üniversitesi

### İletişim (Correspondence)

Hasan ERDOĞAN

hasan.erdogan@adu.edu.tr

*Makale Bilgisi*

Geliş: 06-03-2018

Kabul: 06-04-2018

## Giriş

İki yüzden fazla kanatlı ve kelebek türünün insanlarda yangısal reaksiyon meydana getirdiği bilinmektedir (Kawamoto ve Kumada, 1984). Çam kesesi böceği Lepidoptera familyasının bir üyesidir ve bu familya üyeleri çamlarda yaşamakta ve çam ağaçları, insanlar ve hayvanlara zarar verebilmektedir. Bu tür çam ağaçlarının iğne şeklindeki yaprakları ile beslendiği için bitkilerin yaşamını zorlaştırmakta, aynı zamanda bünyelerinde barındırdıkları allerjen özellikleri ile insan ve hayvanlarda sağlık problemlerine neden olmaktadır (Çetin vd., 2006).

Birçok tırtıl türü insan epidermisine penetre olarak mast hücrelerini etkileyen, kitinöz omurgaya sahip zehirli kıllar ile çevrilidir. Kitinöz omurga üzerinde bulunan bu zehirli kıllar toksik, iritan bir protein olan ‘‘thaumetopoein’’ salgılama özelliğine sahiptirler (Ducombs vd., 1979). Penetrasyon sonrasında bu proteinler mast hücrelerini direkt etkileyerek IgE’den bağımsız bir degranülasyon meydana getirirler (Lamy vd., 1986). Bununla birlikte tırtıllar ile temas hikayesi olan insanlarda anafilaktik reaksiyonların oluştuğuna dair bilgiler de mevcuttur (Werno vd., 1993; Vega vd., 1997; Vega vd., 1999).

Kızarıklık, ödem, kaşıntı ve ağrı, tırtıllar ile temas sonrası meydana gelen en yaygın lokal kutaneöz reaksiyonlardır (Everson vd., 1990). Nadir olarak dispne, bronşitis, farengitis ve keratokonjunktivitis (Bishop ve Morton, 1967; Shama vd., 1982; Kawamoto ve Kumada, 1984) görülebilmekte, insanlarda gözlemlenebilen anafilaktik şok sendrom ve nöbet benzeri bulgular da köpeklerde tespit edilebilmektedir (Everson vd., 1990, Vega vd., 1997, Yıldar ve Güzel, 2013).

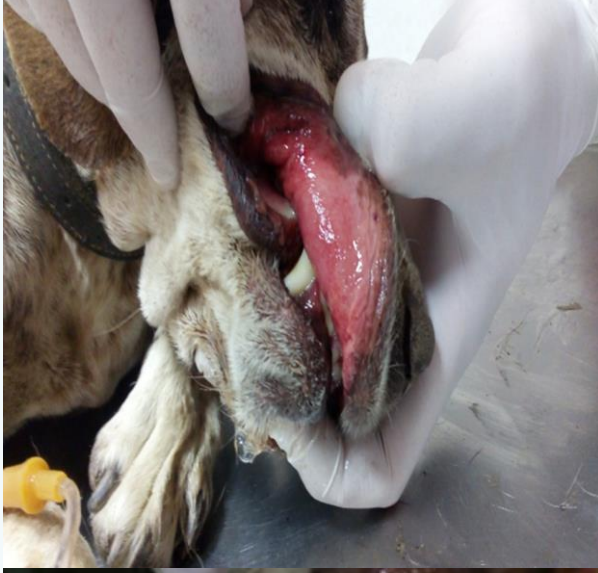
Veteriner literatür de köpeklerde Çam Kesesi Kelebeği (PPM) tırtılının etkisi hakkında fazla sayıda çalışma

bulunmamakla birlikte sunulan çalışmalarda etken ile temas noktasında ürtiker reaksiyonları, anjiyo ödem, kaşıntı, dilde ödem, kusma, nekrozis, salivasyon, lingual ve sublingual ödem, respiratorik distres rapor edilmiştir (Bruchim vd., 2005; Niza vd., 2008; Yıldar ve Güzel, 2013). Nekrotik glossitisin takibinde kısmi dil kaybı en yaygın görülen sekel olarak bildirilmiştir (Grundman vd., 2000). Sunulan bu olguda çam kese böceği tırtılı ile temas eden bir av köpeğinin klinik değerlendirmesi yapılmıştır.

## Olgu Sunumu

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Acil Servis Kliniğine 5 yaşlı 15 kg ağırlığındaki Pointer cinsi av köpeği 3 günlük iştah kaybı şikâyeti ve dışarıdan görülebilecek derecede ağız lezyonları ile getirildi. Hastanın kliniğe intikalinden 3 gün önce av dönüşü ödematöz ve hiperemik dil tablosu hasta sahibi tarafından tespit edildiği ve veteriner hekime başvurularak antibiyotik ve nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar ile sağaltım denendiği ancak uygulama sonrasında herhangi bir iyileşmenin olmadığı alınan anamnezde tespit edildi. Bu bilgilere ilaveten avlık alanda çam ağaçları üzerinde çam kese kurtlarının bulunduğu ve söz konusu hastanın avlanma esnasında bu tırtıllar ile temas ettiği belirlendi.

Hastanın fiziksel muayenesinde; pityyalismus, lakrimasyon, kusma ve yüksek derecede salivasyon gözlemlendi. Ağız boşluğunda dil ve frenulum linguanın ödematöz karakterde olduğu, dilin ağız boşluğundan sarktığı görüldü. Dil ve diş etinde nekrotik ve ülseratif alanlar (Şekil 1) ve 3 günden beri süre gelen iştah kaybı sonucu letarji tespit edildi.



Şekil 1. Ağız boşluğunda nekrotik, ülseratif alanlar ve dil ve gingivida tespit edilen nekrotik, ülseratif alanlar.  
Figure 1. Necrotic, ulcerative areas in oral cavite, necrotic, ulcerative areas on tongue and gingiva

Yapılan hematolojik değerlendirmelerde WBC, NEU, RBC ve HCT konsantrasyonlarının fizyolojik sınırlar içerisinde olduğu belirlendi. Sağaltım öncesinde ve sonrasında yapılan hematolojik değerlendirmede herhangi bir anlamlı değişimin olmadığı tespit edildi.

Hastanın ağız boşluğunun % 0.9 NaCl solüsyonu ile yıkama işlemi gerçekleştirildikten sonra rehidrasyonun sağlanması için % 0.9 NaCl (500 ml), %5 Dekstroz (500 ml) ve İzolen (500 ml) preparatları intravenöz (IV) olarak, toplamda 60 ml/kg/gün olacak şekilde uygulandı. Beş gün süre ile antihistaminik, Mepiramin maleat ve klarbutanol, 1mg/kg, IV) (Histavet, Vetaş, Türkiye) ve kortikosteroid (methylprednisolone, 3mg/kg, IV), Prednol-L 40 mg (Mustafa Nevzat, Türkiye) uygulaması yapıldı. Nekrotik alanların rejenerasyonunu sağlamak amacı ile Vitamin C (Redoxon ampul, Bayer, Türkiye) ve dexpanthenol (11mg/kg, IV, Bepanthe ampul, Bayer, Türkiye) uygulandı. Aynı zamanda Vitamin B kompleks (Nervit 3mg/kg subkutan (SK), VETAŞ, Türkiye), ve lokal ağrının giderilmesi için lidokain (Dentinox jel, Abdi İbrahim, Türkiye) uygulamaları gerçekleştirildi. Sağaltım uygulamalarına toplam beş gün süre ile devam edildi ve klinik iyileşme (Şekil 2) sağlandı.



Şekil 2. Tedavi sonrası mukozal ve gingival görüntü  
Figure 2. Mucosal and gingival view after treatment

## Tartışma ve Sonuç

Çam keseleri hayatları boyunca tam bir değişim göstermektedirler (Holometabolous). Yaşam siklusu yumurta, larva), pupa ve yetişkin olmak üzere 4 evreden oluşmaktadır (İpekdal, 2005). Yumurta evresi yetişkin kelebeklerin çam ağacı iğne yapraklarına yumurtalarını dökmeleri ile başlar. Yumurtadan çıktıktan sonra etrafı daha sonradan ipek iplik özelliği kazanan ağızdan salgılanan salgı ile sarılır. Kış aylarına bu koruyucu kalkan eşliğinde girerler (Hódar vd., 2003). Bölgesel iklim şartlarına göre değişmek kaydıyla genellikle şubat sonu ve mayıs başlangıcında gelişimlerini tamamlarlar. Çoğunlukla sabahın erken saatlerinde yere düşer ve pupa evresinde girerler. Bu kitlesel hareket sürü psikolojisi olarak adlandırılır. Larvaların göstermiş olduğu kitlesel hareketlenme çam kesesi böceğinin çam kesesi keleşi olarak adlandırılmasına öncü olmuştur (İpekdal, 2005). Bir Akdeniz ve Avrupa ülkesi olan Türkiye’de, çam kesesi keleşi tırtılının yaşadığı normal hayat döngüsü çerçevesinde tırtılın yere düşüşü sıklıkla gözlemlenmektedir. Genellikle bu etken ile etkileşim Şubat ve Mayıs aylarında mevsimsel geçişin gerçekleştiği zamanda meydana gelmektedir. Özellikle L4 ve L5 evrelerinde etkeni saran kıllar toksik özellikteki proteini ihtiva ederler (Bruchim vd., 2005; Diaz, 2005; İnal ve Altıntaş, 2006). Pupa periyodunda larva L5 evresi yaşanan bölgenin iklim şartlarına göre değişmek üzere Şubat ve Mayıs aylarında yere ulaşırlar. Bu olguda hastanın etken ile teması Mayıs ayı sonlarında gerçekleşmiş ve olgunun gerçekleştiği zaman etkenin hayat döngüsü ile uyum göstermiştir. Kliniğimize teşhis ve sağaltım amacı ile getirilen olgunun anamnezinde vakanın riskli tarih aralığı içerisinde olduğu ve çam kese böceklerinin avlık alan içerisinde bulunduğu belirlendi. Özellikle kıyı ege şeridi içerisinde çamlık alanlarda yapılan avcılık sporu

girişimlerinde köpeklerin söz konusu temas ile korunması gerektiği ve avcılarının konu ile ilişkili olarak bilgilendirilmesinin gerekli olduğu düşünüldü.

Çam kese böceğinin L4 ve L5 evrelerinde böceği saran kıllar toksik özellikteki protein ihtiva ettiğinden bu dönemde temas edilen yola göre canlıda çeşitli reaksiyonlar gözlemlenebilmektedir (Diaz, 2005; Bruchim vd., 2005; İnal ve Altıntaş, 2006). Etkenin yapısında bulunan toksik özellikteki bu proteinler temas edilen bölgede nekrotik, ülseratif ve ödematöz reaksiyonlar meydana getirmektedirler. Elde edilen veriler ışığında çoğunlukla ağız yolu ile temas gerçekleşmektedir. Etken ağız boşluğunda dil, damak ve diş etlerinde nekroza, ülserasyona ve ödematöz oluşumlara yol açar. Dil kısmı olarak kaybedilebilir. Ayrıca sindirim sisteminde meydana getirdiği reaksiyonlar sonucu abdominal ağrı, kusma ve mide bağırsak kanalında yangısal reaksiyonlara neden olmaktadır. Sindirim sisteminin geniş bir kısmında meydana gelen bu oluşumlar sonucunda aşırı salivasyon, egzersiz intolerans, iştah kaybı ve genel durum düşüklüğünün görülmesi kaçınılmazdır. Olgumuzda değerlendirilen köpekte şekillenen temasın literatürlerde gösterildiği şekilde ağız yolu ile gerçekleştiği ayrıca olguda tespit edilen pityalismus, iştah kaybı, depresif tablo, abdominal ağrı ve iştahsızlık verilen bilgiler ile paralellik göstermektedir. Bununla beraber başvuru kaynakları ile uyumlu bir şekilde nekrotik, ülseratif ve ödematöz tablo olgumuzu oluşturan köpeğin ağızda da gözlemlenmiştir.

Hastanın muayenesi gerçekleştirildikten ve anamnez bilgileri alındıktan sonra hastanın prognozunun belirlenebilmesi amacı ile sağaltım 5 gün süre ile takip edildi ve parenteral sağaltım uygulamalarından sonra yapılan kontrolde hastanın oral lezyonlarının kaybolduğu ve tamamen iyileştiği belirlendi.

Sunulan bu olguda ülkemizde yaygın olarak bulunan Çam Kesesi Kelebeği larvasının temasına bağlı olarak gelişen stomatitis tablosu ve rutin sağaltım denemeleri değerlendirilmiştir. Söz konusu etiyolojik ajan ülkemizde yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Avcılık, dağcılık, doğa yürüyüşü gibi doğa sporları ile ilgilenen insanlar ve hayvanlar açısından konu değerlendirildiğinde risk grubu içerisinde bulunan insan ve hayvanların sağlığı beşeri ve Veteriner hekimlik açısından önem arz etmektedir. Bir köpekte rutin sağaltım uygulamalarının değerlendirildiği bu olguda, ülkemizde yaygın görülen bu türün hayvanlar ve insanlarda oluşturabileceği lezyonlar ve riskleri nedeniyle sportif avcılar ve doğa severler özelinde anlamlı ve önemli bir farkındalık oluşturacağı kanaatine varıldı.

#### Kaynaklar

- Bishop JW, Morton MR, (1967):** Caterpillar-hair keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol*, 64(4), 778-779.
- Bruchim Y, Ranen E, Saragusty J, Aroch I, (2005):** Severe tongue necrosis associated with pine processionary moth (*Thaumetopoea wilkinsoni*) ingestion in three dogs. *Toxicon* 45, 443-447.
- Çetin H, Erler F, Yanikoglu A, (2006):** Toxicity of essential oils extracted from *Origanum onites* L. and *Citrus aurentium* L. against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams *Folia Biol. (Krakow)*, 153-157.
- Diaz JH. (2005):** The evolving global epidemiology, syndromic classification, management, and prevention of caterpillar envenoming. *Am J Trop Med Hyg.* 2005; 72(3), 347-357.
- Ducombs G, Lamy M, Bergaud JJ, Tamisier JM, Gervais C, Texier L, (1979):** La chenille processionnaire (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff *Lepidopteres*) et l'homme: etude morphologique de l'appareil urticant Enquete epidemiologique. *Annalesde Dermatologie et de Venerologie*, 105 (10), 769-778.
- Everson GW, Chapin JB, Normann SA, (1990):** Caterpillar envenomations: a prospective study of 112 cases. *Vet Hum Toxicol*, 32 (2), 114-119.
- Grundmann S, Arnold P, Montavon P, Schraner EM, Wermelinger B, Hauser B, (2000):** Toxic tongue necrosis from processional pine caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Kelintierpraxis*, 45(1), 45-50.
- Hódar JA, Castro J, Zamora R. (2003):** Pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* as a new threat for relict Mediterranean Scots pine forests under climatic warming. *Biol Conserv*, 110, 123-129.
- İnal A, Altıntaş DU. (2006):** Güvenmez HK, Yılmaz M, Kendirli SG. Life-threatening facial edema due to pine caterpillar mimicking an allergic event. *Allergol Immunopathol*, 34(4), 171-173.
- İpekdal K. (2005):** Studies on bio-ecology and control of pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller, 1775) (*Lepidoptera: thaumetopoeidae*). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, (in Turkish with an abstract in English).
- Kawamoto F, Kumada N. (1984):** Biology and venoms of *Lepidoptera*, In: Tu AT editor, *Insects Poison, Allergens and Other Invertebrate Venoms*. Chapter 9, Marcel Dekker, New York.
- Lamy M, Pastureaud MH, Novak F, Ducombs G, Vincendean P, Malerille J, Texier L, (1986).** *Thaumetopoein*: an urticating protein from the hairs and integument of the pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff). *Toxicon*, 24, 347-356.
- Niza ME, Ferreira RL, Coimbra HM, Guerreiro NM, Felix JM, Matos TV, Vilela CL, (2008).** Effects of Pine Processionary Caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* Contact in Dogs: 41 Cases (2002-2006). *Zoonoses and Public Health*.
- Shama SK, Etkind PH, Odell TM, Canada AT, Finn AM, Soter NA, (1982).** Gypsy moth caterpillar dermatitis. *N Engl J Med*, 306(21): 1300-1301.
- Vega JM, Moneo I, Armentia A, Fernandez A, Vega J, De LaFuente R, Sanchez P, Sanchis ME, (1999).** Allergy to the pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa*). *Clinical and Experimental Allergy*, 29, 1418-1423.

- Vega JM, Moneo I, Armentia A, Lopez-rico R, Curiel G, Bartolome B, Fernandez A, (1997).** Anaphylaxis to a pine caterpillar. *Allergy*, 52, 1244–1245.
- Werno J, Lamy M, Vincendeau P, (1993).** Caterpillars hairs as allergens. *Lancet*, 342, 936–937.
- Yıldar E, Güzel Ö, (2013).** Tongue necrosis in a dog associated with the pine processionary caterpillar and its treatment. *Turk J Vet Anım Sci*, 37, 238-241.