

E-ISSN: 2548 - 1150 / Volume 4(1) / April 2019



VET

B



JOURNAL OF ADVANCES IN
VETBIO SCIENCE AND
TECHNIQUES



Year 2019

Volume 4

Issue 1

EDITORIAL ARCHIVE

Editors-in-Chiefs

Hikmet Ün, University of Aksaray (ASU)
İlker Camkerten, ASU

Managing Editors

Gaye Bulut, ASU
Duygu Budak, ASU

Associate Editors

Güzin Camkerten, ASU, Basic Sciences
Hidayet Metin Erdoğan, ASU, Clinical Sciences
Suat Dikel, University of Çukurova, Fisheries

Editorial Board Members

Hasan Erdoğan, **Statistics**, University of Adnan Menderes, Türkiye
Başak Özgermen, **Language**, ASU, Türkiye
Betami Yılmaz, University of Harran, Türkiye
Caner Öztürk, ASU, Türkiye
Deniz Aliç Ural, University of Adnan Menderes, Türkiye
Halil Selcukbiricik, University of Afyonkocatepe, Türkiye
Hesham A. El Enshasy, Universiti Teknologi Malaysia, Malaysia
Hilal Karagül, University of Ankara, Ankara, Türkiye
Ilia Tshacev, University of Stara zagora, Bulgaria
Katarzyna Żarczyńska, University of Warmia-Mazury, Poland
Kerem URAL, University of Adnan Menderes, Türkiye
Koycho Koev, University of Stara zagora, Bulgaria
Mehmet Avcı, University of Harran, Şanlıurfa, Türkiye
Mehmet Çabalar, University of Harran, Türkiye
Muhammed Katica, University of Srajevo, Bosnia&Herzegovina
Przemysław Sobiech, University of Warmia-Mazury, Poland
Tevhide Sel, University of Ankara, Türkiye
Zbigniew Adamiak, University of Warmia-Mazury, Poland

Layout, Page Design, Typesetting
Faruk Kahraman, Abdurrahman Lüleci, Fatih Usta
e-mail: ejavst@gmail.com
Web Page: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>
Phone: 05536203468
Names are listed alphabetically

Journal of Advances in VetBio Science and Techniques is aimed to serve as scientific research journal.

VetBio is a **triannual** (April, August, and December), open access, and fully refereed **international** journal.

VetBio is to publish high-quality scientific research articles on animal-related fields including science branches such as veterinary medicine, fisheries, food science, 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 **double-blind** peer-review. The VetBio **does not charge** submission, processing or publication fee.

VetBio has been **indexed** by **Index Copernicus International (ICI)** World of Journals, **Google Scholar**, Academic Research Index (**Research Bib**), 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.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



April 30, 2019 / Copyright© VetBio

INDEX COPERNICUS
INTERNATIONAL

DergiPark
AKADEMİK



CONTENTS

Research Articles

	Pages
Farklı sazan türlerinin kafes ve tank koşullarında polikültür amaçlı yetiştirme olanaklarının incelenmesi Investigation of Culture Possibilities of Different Carp Species in Cage and Tank Conditions for Polyculture † Suat Dikel, Alp Özgüven, Ilgın Özşahinoğlu	1 - 8
Isolations of <i>Shewanella</i> and <i>Aeromonas</i> Species from Silver European Eel Fish (<i>Anguilla anguilla</i> Linnaeus, 1758) Gümüş Avrupa Yılan Balığı (<i>Anguilla anguilla</i> Linnaeus, 1758)'ndan <i>Shewanella</i> ve <i>Aeromonas</i> Türlerinin İzolasyonları † Hasan Atalay, Erdem Danyer, Tanay Bilal, Mikail Arslan, Sinan Toksavul, Kudret Yenilmez, Hüdai İpek	9 - 15
Determination of backfat thickness with transrectal ultrasonography in cattle Sığır sırt yağ kalınlığının transrektal ultrasonografik muayene yöntemi ile belirlenmesi † Hasan Atalay, Erdem Danyer, Tanay Bilal, Mikail Arslan, Sinan Toksavul, Kudret Yenilmez, Hüdai İpek	16 - 21
Case Reports	
An unusual outcome for fetal death in bitch: a case report Köpek fetal ölümlerinde nadir bir durum: Olgu sunumu † Güneş Erdoğan, Tuğra Akkuş, Rita Payan-Carreira	22 - 25
Reviews	
İnsanlarda kene ile bulaşan hastalık etkenleri ve Türkiye'deki mevcut durumu Tick-borne diseases agents in humans and current situation in Turkey † Mehmet Fatih Aydın, Ayşe Coşkun	26 - 32
Ruminantların beslenmesinde inaktif maya metabolitleri Inactive yeast metabolites in ruminant nutrition † Duygu Budak, Aydan Yılmaz	33 - 39
The role of organic urine sediment analysis in the monitoring of renal diseases † Muhamed Katica, Nasreldin Hassan Ahmed, Alen Salkić, Adis Mukača, Ajdin Bašić, Emina Dervišević	40 - 50

Farklı sazan türlerinin kafes ve tank koşullarında polikültür amaçlı yetiştirme olanaklarının incelenmesi

Investigation of Culture Possibilities of Different Carp Species in Cage and Tank Conditions for Polyculture

ÖZET

Tank ve Kafes sistemleri olmak üzere iki farklı yetiştirme ortamında 3 farklı sazan türünün (Aynalı sazan, pullu sazan ve ot sazanı), 90 günlük besi sonrası yetiştiricilik performansları karşılaştırılmıştır. Deneme Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Üretim ve Araştırma istasyonunda Temmuz ve Eylül ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Denemede 2 g'lık aynalı sazanlar (AS) *Cyprinus carpio*, 3 g civarında pullu sazanlar (PS) *Cyprinus carpio* ve 3-4 g civarında başlangıç ağırlığı olan ot sazanları (OS) *Ctenopharyngodon idellus* kullanılmıştır. 90 günlük besleme sonrasında gruplar içinde en yüksek Spesifik büyüme oranına (SGR) kafeslerde yetiştirilen OS grubunda ($2,06 \pm 0,3$ %gün) ile ulaşılırken onu AS grubu bireyleri ($1,93 \pm 0,01$ %gün) izlemiştir. Tank sisteminden $568,9 \text{ kg/m}^3$ ürün hasat edilirken kafes sistemlerinden $582,4 \text{ kg/m}^3$ ürün elde edilmiştir ($P > 0,05$). Oransal büyüme değerleri açısından en yüksek büyüme oranına kafes sistemlerinde yetiştirilen OS grubunda ($565,57 \pm 16,54$) ulaşılırken onu sırayla kafeslerde yetiştirilen AS grubu ($470,6 \pm 16,48$) ve tanklarda yetiştirilen PS grubu ($399,74 \pm 6,73$) izlemiştir ($P < 0,05$). Polikültür şartlarında türler açısından değerlendirme yapıldığında pullu sazanlar için yetiştirme ortamının kafes ya da tank olması ile her hangi bir fark gözlenmemiştir. Bunun yanı sıra aynalı sazan ve ot sazanları için ise kafes sistemlerinde yetiştirilmesi tank ortamında yetiştirilmesine göre çok daha iyi sonuç vermiştir.

Anahtar kelimeler: Ağ Kafes, Fiber Tank, Polikültür, Ot Sazanı, Aynalı sazan, Pullu sazan

ABSTRACT

In two different breeding environments including tank and cage systems, 3 different carp species (mirror carp, common carp, and grass carp), and 90 days post-fattening performance were compared. The experiment was carried out at Çukurova University Aquaculture Production and Research Station between July and September. In the experiment, commercial carp feeds containing 36% Crude protein and 11% crude oil were used and feeding was carried out twice a day. In the experiment, 2-mirror carp (MC) *Cyprinus carpio*, 3 g of common carp (CC) *Cyprinus carpio* and 3-4 g of grass carp (GC) *Ctenopharyngodon idellus* were used. The experimental groups were stocked together in cages and tanks with 25 fish / m^3 (10 MC + 10 CC + 5 GC). At the end of the 90 day feeding period, in the GC group ($2.06 \pm 0.3\%$ days), the highest specific growth rate (SGR) was reached in cages, followed by MC group ($1.93 \pm 0.01\%$ day). 568.9 g/m^3 yield from the tank system, 582.4 kg/m^3 yield was obtained from the cage system ($P > 0.05$). The highest growth rate in terms of proportional growth values was reached in the GC group (565.57 ± 16.54), which was grown in lattice systems, while the MC group (470.6 ± 16.48) grown in cages and of the CC group grown in tanks (399.74 ± 6.73) ($P < 0.05$). When evaluated in terms of species under polyculture conditions, no difference was observed with the cage or tank being the growing medium for common carp. In addition to this, for the mirror carp and grass carp, the culture in the cage systems was much better than the cultivation in the tank environment.

Keywords: Carp, Fiber Tank, Net Cage, Polyculture, Grass carp, Mirror carp.

How to cite this article

Dikel, S., Özgüven, A. ve Özşahinoğlu, I. (2019) Farklı sazan türlerinin kafes ve tank koşullarında polikültür amaçlı yetiştirme olanaklarının incelenmesi. *J Adv VetBio Sci Tech*. 4(1): 1-8. DOI: <http://doi.org/10.31797/vetbio.544785>

Research Article

Suat Dikel¹
Alp Özgüven²
İlgin Özşahinoğlu³

¹ Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü Adana, Türkiye [ORCID: 0000-0002-5728-7052](https://orcid.org/0000-0002-5728-7052)

² Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi Türkiye [ORCID: 0000-0002-9480-4055](https://orcid.org/0000-0002-9480-4055)

³ Çukurova Üniversitesi Fekte Meslek Yüksek Okulu Adana - Türkiye [ORCID: 0000-0002-3341-4061](https://orcid.org/0000-0002-3341-4061)

Correspondence
Prof. Dr. Suat DİKEL
dikel@cu.edu.tr
5337320121

Article info
Submission: 09-12-2018
Accepted: 08-04-2019
Online published: 21-04-2019

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



e-ISSN: 2548-1150
website: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>
doi prefix: [10.31797/vetbio](https://doi.org/10.31797/vetbio)

GİRİŞ

Sazan, Orta ve Geç Roma döneminde lüks bir yiyecektir ve orta çağda oruç sırasında tüketilmiştir. Balıklar Romalılar tarafından depolama havuzlarında ('piscinae') ve daha sonra Hıristiyan manastırları tarafından inşa edilen balık havuzlarında tutulmuştur. En büyük bireyler damızlık olarak seçilmiştir. 12. yüzyıldan 14. yüzyılın ortalarına kadar, evcilleştirmeye doğru ilk adımları atılarak ve istemsiz olarak yapılan yapay seleksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Kontrollü yarı-doğal gölet yetiştiriciliği ile sazan yavrularının yetiştiriciliği 19. yüzyılda Avrupa'da başlamıştır (FAO 2015).

Cyprinidler Çin'de 2000 yıldan fazla bir süredir yetiştirilmekte ve burada göletlerde tutulmaktadır. Göletler, nehirlere gelen yavrular ile düzenli olarak stoklanmış ve doğal yeme dayalı polikültürel yetiştirme teknolojisi uygulanmıştır. Son zamanlarda sazan yetiştirme alanlarının çoğunda adi sazan üretilmektedir. Avrupa'da yaklaşık 30-35 yerli adi sazan varyetesi vardır. Çin'de birçok varyete bulunmaktadır. Şimdiye kadar bilimsel olarak incelenmemiş ve tanımlanmamış bazı Endonezya sazan alt türleri vardır (FAO 2015).

Sazan türleri günümüzde halen ticari potansiyelini koruyarak artırmaktadır. 2015 FAO verilerine göre toplam 19 milyon ton üretime ulaşılmıştır (FAO 2015). Bu değerlerin 2030 yıllarına gelindiğinde 21 milyon tonu bulacağı tahmin edilmektedir (Msangi ve ark., 2013). Özellikle Çin ve Güney Doğu Asya ülkeleri Avrupa kıtasından da Çekya ve Macaristan ciddi üreticiliklerini korumaktadırlar. Sazan türleri arasında ot sazanı *Ctenopharyngodon idellus* 5,82 milyon ton ile en fazla üretilen türdür. Bunu 5,125 milyon ton ile adi sazan *Cyprinus carpio* izlemektedir. Sazanların beslenme alışkanlıkları kültür ortamına uyum yetenekleri, kolay üretilebilmeleri, üretim şartlarına dayanıklılıkları, iklimsel ve coğrafik dağılım bakımından avantaj sahibi olmaları tüm kıtalarda yaygın olarak üretilebilmelerini mümkün kılmaktadır. Özellikle beslenme alışkanlıkları gereği bitkisel kaynaklardan daha iyi yararlanmaları ve hayvansal besin kaynaklarına gereksinimlerinin diğer türlerden daha az olması, yem değerlendirme yetenekleri konusundaki avantajları sadece günümüzde değil belli

ki önümüzdeki yıllarda da önemini giderek artıracak ve tüketimlik balık üretimine ciddi bir enstrüman olmaya devam edecektir. Sazanların polikültür amacıyla kullanılması konusunda çokça örnek mevcuttur, tilapialarla (Polat ve ark., 1995), pekin ördekleri ile (Tekelioğlu 2005; Azim ve Wahab, 2003), kocabaş sazan, hint sazanı ve catla catla (Afzal ve ark., 2007) gibi türlerle çok amaçlı olarak birlikte yetiştiriciliği denenmiştir.

Güney Asya'da polikültürler arasında Rohu *Labeo rohita* (Hamilton), catla *Catla catla* (Hamilton) ve mrigal *Cirrhinus cirrhosus* (Bloch) gibi bir çok popüler olan tür vardır (Uddin ve ark., 1994; Miah ve ark., 1997; Kanak ve ark., 1999). Bununla birlikte, üretim sistemleri sürekli değişmektedir. Günümüzde Rohu daha yüksek bir tüketici tercihi ve pazar değerine sahip olduğundan çiftçiler stoklamak için Rohuyu tercih ederler. Bunun yanı sıra çiftçiler dipten beslenmesi nedeniyle adi sazanı da stoklamak için tercih etmektedirler. Bunlarla beraber mrigal sazan ve diğer iki tür 3 lü kombinasyonla yetiştirildiklerinde tek yetiştiriciliğinden daha yüksek verim alındığı bildirilmiştir (Dewan ve ark., 1985; Wahab ve ark., 1995; Milstein ve ark., 2002). Wahab ve ark., (2002) Rohu, catla, *punti puntius sophore* (Hamilton), ile birlikte yetiştiriciliği üzerine bir deneme gerçekleştirmişlerdir. Denemede yarı-yoğun polikültür sistemi içinde adi sazan ile Rohu'nun birlikte yetiştirildiği sistem mirigal sazandan % 60 daha yüksek bir verim elde edebilmiştir.

Sazan ağırlıklı olarak makroinvertebrat ve zooplanktonlarla bentik beslenen bir dipten beslenicidir (Tang, 1970; Spataru ve diğerleri, 1980; Hephher ve Pruginin 1981; Spataru ve ark., 1983). Ancak bununla beraber suni yem uygulandığında, sazan kolaylıkla dışarıdan beslemeyi kabul eder (Yashouv ve Halevy, 1972; Spataru ve ark., 1980; Schröder, 1983; Milstein ve Hulata, 1993). Ot sazanı ve adi sazan gıda ve beslenme alışkanlıkları, genel beslenme ve yem durumuna göre farklılık gösterebilir. Bu da havuzlarda doğal besin gıda kullanılabilirliğini artırabilir (Yashouv, 1971; Milstein ve ark., 1988, 2002). Bu gibi ilkeler yaygın olan kabul edilmektedir, ancak sayılara ve verilere gereksinim duyulmaktadır. Bununla birlikte, gıda temini ve yem tüketimi sazan

yoğunluğu ve kantitatif etkileri tam olarak bilinmemektedir (Wahab ve ark., 1995; Milstein ve ark., 2002). Gerçekten de, polikültür çalışması yapılan havuzlarda besin ağı ekoloji kantitatif ilişkisini analiz etmeye çalışan çoğu çalışma sindirim sistemindeki farklı besin öğelerinin yüzdelerini önemsemektedir. (Dewan ve ark.,1991; Wahab ve ark.,1995; Azim ve ark.,2004).

Su ürünleri yetiştiriciliği dünyada en hızlı büyüyen sektörler arasında gelmektedir. Sektördeki bu büyümeyi devam sürdürülebilir hale getirmek için birçok balık türü yetiştiricilik faaliyetlerinde değerlendirilmektedir. Ayrıca son zamanlarda birçok doğal ve sentetik katkı maddeleri de araştırılmaktadır. Bu çalışmalara ek olarak verilen yemlerin ve yetiştiricilik sistemlerinin balıkların besin içeriği, yağ asidi profili ve raf ömrüne etkileri de oldukça fazla çalışılmaktadır (Dikel ve ark., 2010; Özşahinoğlu ve ark., 2013; Öz ve Dikel 2015; Öz, 2016; Taşbozan ve ark., 2016; Öz ve ark., 2017; Büyükdeveci ve ark., 2018; Öz 2018; Öz ve ark., 2018a; Öz ve ark., 2018b;).

Türkiye’de her ne kadar balık yetiştiriciliği sazan türleri ile başlamış olsa da sazan yetiştiriciliği ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Gerek beslenme alışkanlıkları, gerekse düşük su kalitesi isteği gibi sebeplerden dolayı sazan türleri ile ilgili yetiştiricilik çalışmalarına çok fazla ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle tarım ve orman bakanlığının 2019 yılı su ürünleri destekleri kapsamında sazanın özel bir yeri olması bu tarz çalışmaları daha da önemli hale getirmektedir.

MATERYAL VE METOT

Çalışma Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Dr. Nazmi Tekelioğlu Tatlısu Ürünleri Üretim ve Araştırma İstasyonu’nda, kanal suyu ve yer altı suyu kullanılarak, fiber tanklarda ve havuz içine yerleştirilmiş kafeslerde yürütülmüştür. Önceden projelenmiş deneme dizaynı, deneme öncesi yapılan çalışmalar, deneme başlangıcı verileri ve deneme periyodu aşağıda belirtilmiştir.

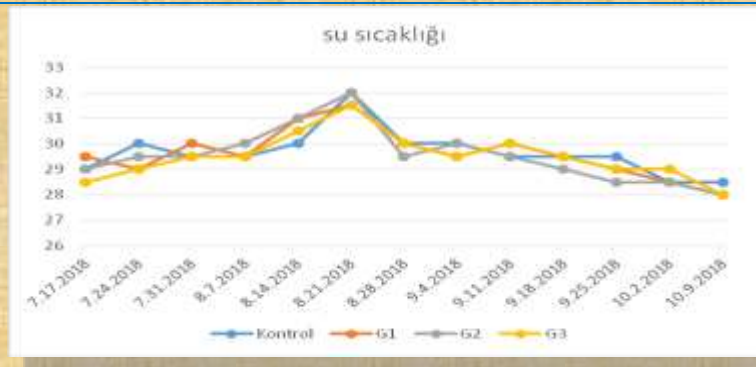
Deneme Grupları

Tank grubu: Pullu sazan (10 adet) + Aynalı sazan (10 adet) + Ot sazanı (5 adet)

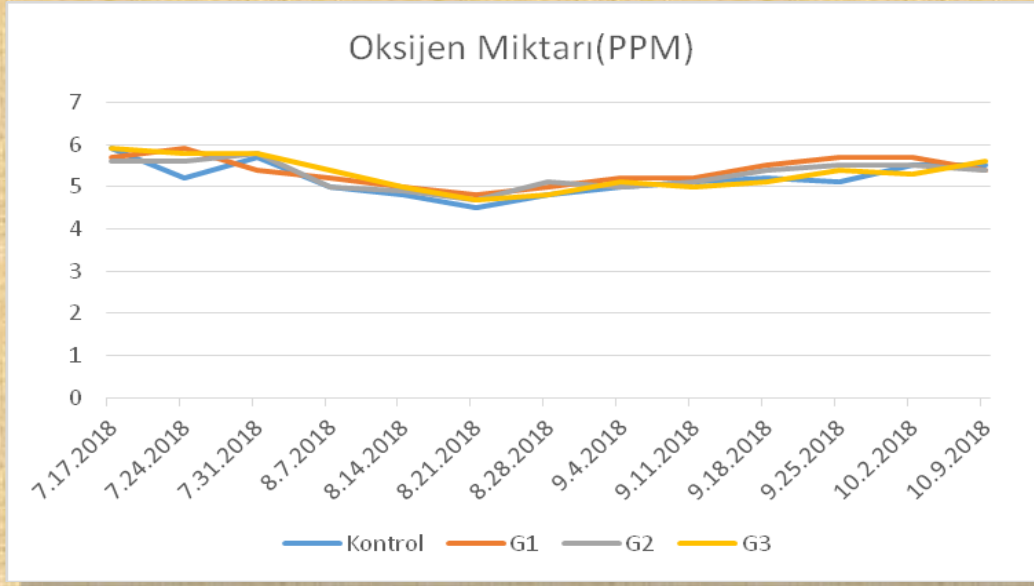
Kafes Grubu: Pullu sazan (10 adet) + Aynalı sazan (10 adet) + Ot sazanı (5 adet)

Her bir grup 3 tekerrürden oluşmaktadır. Araştırmanın yapılacağı fiber tanklar 800 litre, kafesler 1 m³ hacme sahiptir (bunun %80’i suyun içinde kalacak şekilde konuşlandırılmıştır).

Gruplara stoklama yapılırken balık sayıları ve stok yoğunlukları 25 adet/tank veya kafes şeklinde tutulmuştur. Deneme başlangıç ölçümünden bir gün sonra başlamıştır. Deneme 90 gün sürmüştür. Balıklar günlük olarak sabah 09:00, öğlen 12:00 ve akşam 16:00 olmak üzere üç öğün beslenmişlerdir. Beslemeden önce su sıcaklıkları ve suyun oksijen miktarı OxyGuard® marka oksijen-metre kullanılarak günde 3 defa ölçülmüştür. 90 günlük sıcaklık değişim grafiği şekil 1 de gösterilmiştir. Yine 90 günlük sudaki oksijen seviyesinin değişimi şekil 2 de gösterilmiştir.



Şekil 1. Günlük su sıcaklığı değişimi
Figure 1. Daily water temperature change



Şekil 2. Denemede ölçülen suyunun günlük çözülmüş oksijen miktarı değişimi
Figure 2. Daily dissolved oxygen amount change in water measured in experiment

Her 15 günde bir ara ölçüm yapılarak balıkların 2 haftalık büyüme performanslarına bakılmıştır. Ara ölçümlerdeki veriler her bireyin tek tek tartılmasıyla elde edilmiştir. Denemede ticari bir markanın 4 mm'lik sazan yemi kullanılmıştır, yeminin besin içeriği tablo 1de verilmiştir. Deneme süresi boyunca su akışı kaynak suyuyla sağlanmakla beraber tankların hepsine hava besleme hatları kurulmuştur. Hava besleme hatları, hava kompresörü (blower) aracılığıyla sağlanmıştır. Tanklar içerisindeki havalandırma bağlanan akvaryum hortumu ucuna geçirilen hava taşlarıyla yapılmıştır. Kafes sistemleri için ise her hangi bir havalandırma etkinliği yapılmamış olup sürekli akıntılı su ile havuz sistemi suyu tazelenmiştir.

Analizler

Denemelerin sonunda büyüme ve yem tüketimi ile ilgili yapılacak olan hesaplamalar aşağıdaki gibidir.

Canlı Ağırlık Kazancı (%)= (Final ağırlığı - Başlangıç ağırlığı)⁻¹ x 100

Günlük Canlı Ağırlık Kazancı= (Final ağırlığı - Başlangıç ağırlığı) x gün⁻¹

Spesifik Büyüme Oranı: SBO (%g gün⁻¹)= [Ln(final ağırlığı) - Ln(başlangıç ağırlığı)] x (gün⁻¹) x 100

Yem Değerlendirme Oranı (FCR)= (Tüketilen yem miktarı) x (Canlı ağırlık kazancı)⁻¹

Yaşama Oranı(YO) = (Deneme sonundaki balık sayısı) x (Deneme başındaki balık sayısı)⁻¹ x 100

Oransal Ağırlık Artışı= [(Final ağırlığı) - (Başlangıç ağırlığı)] x (Başlangıç ağırlığı)⁻¹ x 100

Tablo 1. Denemede kullanılan ticari sazan yemi içeriği
Table 1. The content of the commercial feed used in the trial

Analitik Bileşenler	
Nem (%)	10
Ham Protein (%)	35
Ham Yağ (%)	6
Ham Selüloz (%)	4
Ham Kül (%)	10
Brüt E. (kcal/kg)	4000

İstatistik hesaplamaları

Deneme sonucunda elde edilen veriler SPSS istatistik programında one-way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ile analiz edilmiştir. Gruplar arasında Final ağırlığı, Canlı ağırlık kazancı, Günlük canlı ağırlık kazancı açısından karşılaştırmalar aynı türler arasında yapılmıştır. Yani aynalı sazan bireyleri diğer gruptaki aynalı sazanlarla (Student T testi) karşılaştırılmış ve ona göre harflendirilmiştir. Oransal değerler (SGR ve

Oransal Ağırlık Artışı) için ise tüm gruplar (6 deneme grubu) birbirleriyle Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Yem Değerlendirme Oranı için ise polikültür grupları yani tank ve kafes ortamında yetiştirilen iki polikültür grubu Student T testi ile karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

Balıkların büyüme performansı

Deneme 90 günlük besleme sonunda kafes ve tank sisteminde yetiştirilen aynalı pullu ve ot sazanlarından oluşan polikültür kombinasyonlarının besi performansları karşılaştırılmıştır. İki farklı yetiştiricilik ortamının test edildiği çalışmada elde edilen veriler çizelge 2 de verilmiştir.

Canlı ağırlık artışı

Tanklarda ve kafeslerde sazanların polikültür amacıyla yapılan yetiştiriciliğinde polikültür gruplarından kafes sistemlerinde olanların daha iyi büyüdüğü saptanmıştır (Şekil 3). Detaylarına bakıldığında kafes sistemlerinin ot sazanlarında (%565,57±16,5) diğerlerine göre daha olumlu yönde etkilediği gözlenmiştir (P<0.05). Pullu sazanlarda polikültür amacıyla kafes (%349,84±13,2) ve tank (%350,01±10,3) sistemlerinde yetiştirilmeleri arasında her hangi bir fark gözlenmemiştir (P>0.05). Ayna sazanlar için ise kafes sistemlerinde (%470,6±16,4) büyümenin tank sistemine (%258,36±12,8) göre daha yüksek olduğu sonucu bulunmuştur (P<0.05).

Tablo 2 Tank ve kafeslerde yetiştirilen sazan polikültür gruplarının besi performansları

Table 2 Growth performance of carp polyculture groups grown in tanks and cages

Performans Değerleri	Tank			Kafes		
	Aynalı Sazan	Pullu Sazan	Ot Sazanı	Aynalı Sazan	Pullu Sazan	Ot Sazanı
Başlangıç Ağırlığı (g)	1,98±0,02	2,78±0,01	4,71±0,52	1,83±0,1	2,7±0,1	2,99±0,77
CAK (g)	5,1±0,29 ^A	9,74±2,84 ^a	17,81±3,02 [*]	8,32±1,07 ^B	9,67±0,54 ^a	16,09±1,52 ^{**}
SGR %gün	1,41±0,03 ^a	1,67±0,01 ^b	1,74±0,23 ^{bc}	1,93±0,01 ^d	1,67±0,2 ^b	2,06±0,3 ^d
Oransal AA%	258,36±12,8 ^a	350,01±10,3 ^b	399,74±6,7 ^c	470,6±16,4 ^d	349,84±13,2 ^b	565,57±16,5 ^c
Günlük CA	0,056±0,003 ^A	0,108±0,03 ^a	0,201±0,03 [*]	0,09±0,01 ^B	0,107±0,006 ^a	0,178±0,01 ^{**}
FCR		2,8±0,40 [*]			2,7±0,44 [*]	
Top Ürün(g/m³)		568,9±0,01 [*]			582,4±0,03 [*]	

Farklı harf ve karakterler ortalamalar arasındaki farkın önemini işaret etmektedir.

CAK: Canlı ağırlık Kazancı, SGR: Spesifik Büyüme Oranı, Oransal AA: Oransal Ağırlık Artışı, FCR: Yem Değerlendirme Oranı

Günlük Canlı Ağırlık Kazançları

Aynalı sazanlarda kafes sistemlerinde daha fazla günlük canlı ağırlık elde edilirken (P<0,05), ot sazanlarında ise tank ortamında yetiştirilenler daha fazla günlük canlı ağırlık kazancı sağlamışlardır (P<0,05) Pullu sazanlar için ise sistemler arasında elde edilen değerlerde bir fark gözlenmemiştir (P>0,05).

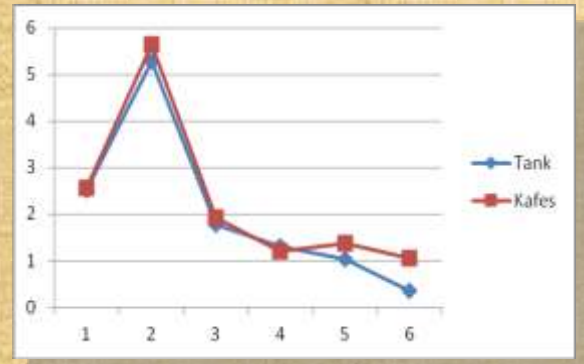
Yaşama Oranı

Denemede herhangi bir ölüm olgusuyla karşılaşmamıştır

Spesifik Büyüme Oranı

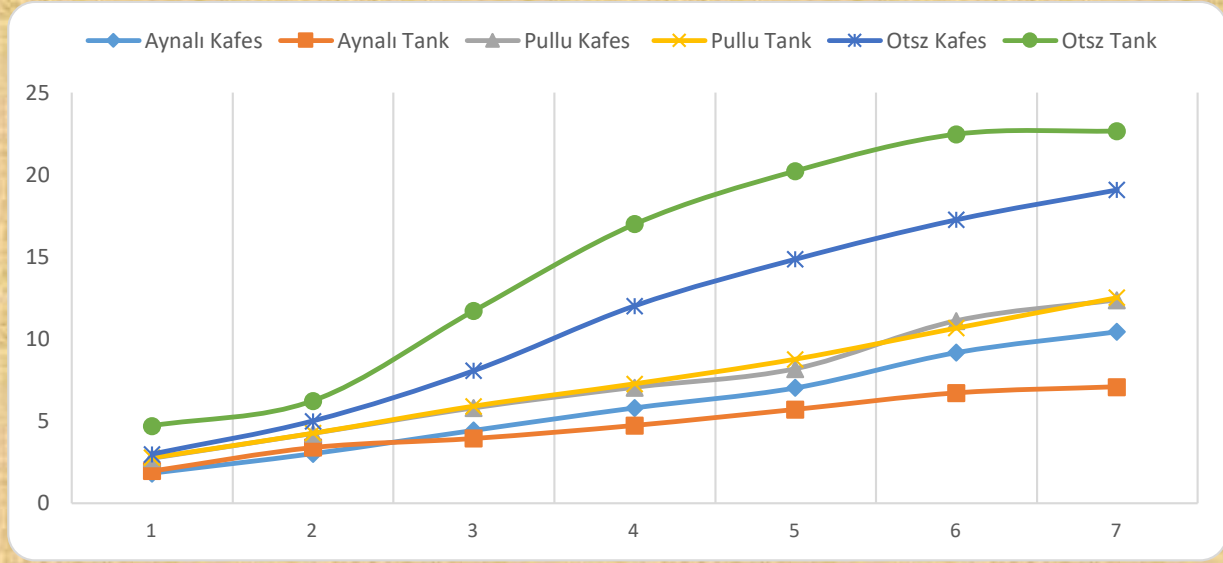
Yüzde olarak günlük büyüme değerine bakıldığında en iyi değerlerin yine kafeslerde yetiştirilen ot sazanlarından (2,06±0,3) elde edildiği görülmüştür (Şekil 4). Bununla birlikte kafes sistemlerinde

yetiştirilen aynalı sazanlardan elde edilen 1,93±0,01 g%/gün lük değer ot sazanları ile benzer (P>0,05) ve diğer gruplardan ise farklı bulunmuştur (P<0,05).



Şekil 4. Sazan Polikültür gruplarının Kafes ve Tank sistemlerinde göstermiş oldukları SGR performansları.

Figure 4. SGR performances of Carps polyculture groups in Cage and Tank systems



Şekil 3. Kafes ve tank ortamlarında yetiştirilen sazan polikültür grupların büyüme eğrileri
Figure 3. Carp polyculture grown in cage and tank conditions growth curves of groups

Toplam Hasat

İki farklı üretim sistemi olan tank ve kafeslerde yetiştirilen polikültür grupların elde edilen toplam ürüne bakıldığında sistemlerin önemli düzeyde bir fark yaratmadığı gözlenmiştir. Tank sisteminden 568,9 g/m³ ürün hasat edilirken kafes sistemlerinden de 582,4 g/m³ ürün elde edilmiştir (P>0,05).

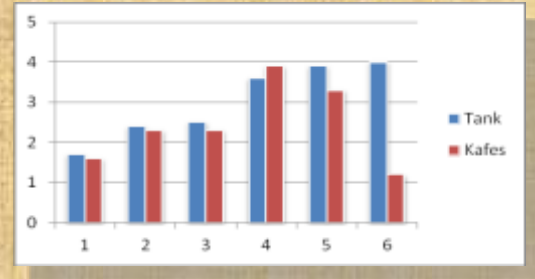
Yem Değerlendirme Oranı

Gruplar arasında yem değerlendirme oranı açısından gözlemler yapılmış (Şekil5), kafes ve tank sistemleri arasında önemli düzeyde bir fark oluşmadığı gözlemlenmiştir (P>0,05). Sadece son gözlem döneminde Şekil 5 den de görüleceği üzere mevsimsel değişikliğin de etkisi ile kafes sistemlerinde yetiştirilen polikültür grubunun çok daha iyi bir yem değerlendirme sağladığı gözlemlenmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Doksan günlük besi periyodu sonunda kafes ve tank sistemlerinde yetiştirilen sazan polikültür gruplarının büyüme ve yem değerlendirme performansları değerlendirilmiştir. Su sütununun farklı bölümlerinden beslenme yapabilen aynalı sazan, adi sazan ve ot sazani yavrularının birbirleri ile uyum içerisinde farklı ortamlardaki performanslarına bakılan çalışmada elde edilen veriler Nandeessa ve ark.,(1994); Milstein ve ark (2002) ile uyum içerisinde. Denemede test

edilen tank ve kafes kültür sistemleri birçok yetiştiricilik çalışmasına konu olmuştur (Kiriş ve Dikel 2002; Dikel 2005; Dikel 2009).



Şekil 5. Deneme Gruplarının Göstermiş oldukları Yem Değerlendirme Performansları
Figure 5. Feed Conversion Performances of Trial Groups

Kafes sistemleri ağ gözleri ve su sütunu aracılığı ile yetiştiricilikte ciddi bir avantaj oluşturmaktadır (Dikel 2002). Tank sistemleri ise yoğun yetiştiriciliğe olanak sağlaması bakımından yetiştiricilikte günümüzde tercih edilmektedir. SGR değerleri açısından denemede elde edilen değerler Anton-Pardo ve ark., 2014'nın bildirdiği (0,35 ve 0,37) değerlerden daha iyi olduğu görülmektedir. Aynalı sazanlarda ve ot sazanlarında kafes sistemleri daha iyi SGR oluşmasını desteklerken adi sazanlarda iki sistem arasında fark oluşmamıştır. Çoğunlukla toprak havuzlarla sınırlanmış olan sazanın yetiştirme tekniği, normalde, üç türlü polikültür sistemler içindeki diğer

iki Hint majör sazani ile ve bazı durumlarda, üç Hint majör sazani içeren altı türlü bileşik sazani kültürü ile de bir üretim sistemi içinde yetiştirilebilir (Nandeesh, ve ark., 1994). Tank sistemleri ve kafes sistemleri birçok balık türü için karşılaştırmalı olarak denemiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (Kiriş ve Dikel 2002). Bu çalışmada da tank sistemleri besi performansı açısından kafes sistemlerine göre geride kalmıştır. Kafes sistemleri özellikle aynalı sazani ve ot sazani yavru yetiştiriciliği için tercih edilebilir görünmektedir.

KAYNAKLAR

- Afzal, M., Rab, A., Akhtar, N., Khan, M. F., Barlas, A., & Qayyum, M. (2007).** Effect of organic and inorganic fertilizers on the growth performance of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) in polyculture system. *Int J Agric Biol*, 9(6), 931-933.
- Anton-Pardo, M., Hlaváč, D., Másilko, J., Hartman, P., & Adámek, Z. (2014).** Natural diet of mirror and scaly carp (*Cyprinus carpio*) phenotypes in earth ponds. *Folia Zoologica*, 63(4), 229-238.
- Azim, M. E., & Wahab, M. A. (2003).** Development of a duckweed-fed carp polyculture system in Bangladesh. *Aquaculture*, 218(1-4), 425-438.
- Azim, M. E., Rahaman, M. M., Wahab, M. A., Asaeda, T., Little, D. C., & Verdegem, M. C. J. (2004).** Periphyton-based pond polyculture system: a bioeconomic comparison of on-farm and on-station trials. *Aquaculture*, 242(1-4), 381-396.
- Büyükdeveci, M. E., Balcázar, J. L., Demirkale, İ., & Dikel, S. (2018).** Effects of garlic-supplemented diet on growth performance and intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 486, 170-174.
- Dewan, D., Wahab, M. A., Beveridge, M. C. M., Rahman, M. H., & Sarkar, B. K. (1991).** Food selection, electivity and dietary overlap among planktivorous Chinese and Indian major carp fry and fingerlings grown in extensively managed, rain-fed ponds in Bangladesh. *Aquaculture Research*, 22(3), 277-294.
- Dewan, S., Miah, M. J. U., & Uddin, M. N. (1985).** Studies on the food and feeding habits of *Cyprinus carpio* II. diel and seasonal patterns of feeding of the fish. *Bangladesh J Aquac.* 6-7, 11-18.
- Dikel, S. (2002).** Su Ürünlerinde Mekanizasyon Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitapları Yayın no 12. Adana. Lotus Yayıncılık
- Dikel, S. (2005).** Kafes Balıkçılığı. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitapları Yayın, 18.
- Dikel, S. (2009).** Tilapia Yetiştiriciliği. TC Tarım ve Köy işleri Bakanlığı. Tarımsal Üretim Geliştirme Genel Müdürlüğü. ANKARA.
- Dikel, S., Ünal, B., Eroldoğan, O. T., & Hunt, A. Ö. (2010).** Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth, muscle fatty acid composition and economic profit of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10(2), 173-180.
- FAO (2015).** Aquaculture topics and activities. Aquaculture resources. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 29 December 2015. [Cited 12 March 2019].
- Hepher, B. and Pruginin, Y. (1981).** Commercial Fish Farming. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, New York, USA. 261 pp.
- Kanak, M. K., Dewan, S., & Salimullah, M. (1999).** Performance of exotic fishes with Indian major carps in polyculture under three different species combinations. *Bangladesh J. Fish*, 22, 1-6.
- Kiriş, G. A., & Dikel, S. (2002).** Fiber tank ve beton havuza yerleştirilmiş ağ kafeslerdeki gökkuşuğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) besi performansları ve karkas kompozisyonları. *EU Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 19(3-4), 371-380.
- Miah, M. S. (1997).** Effect of stocking ratios on the growth and production of fishes in mixed polyculture system. *Bangladesh J Fish*, 20, 135-138.
- Milstein, A., Wahab, M.A., Rahman, M.M. (2002).** The effect of common carp, *Cyprinus carpio* (L.) and mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) as bottom feeders in major Indian carp polycultures. *Aquaculture Research*. 33, 547-556
- Milstein, A., & Hulata, G. (1993).** Factor analysis and canonical correlation analysis of fish production in commercial farms in Israel. *Multivariate Methods in Aquaculture research: case studies of tilapia in experimental and commercial systems. ICLARM Stud. Rev.* 20(221), 119-160.
- Milstein, A., Hepher, B., & Telch, B. (1988).** The effect of fish species combination in fish ponds on plankton composition. *Aquaculture Research*, 19(2), 127-137.
- Msangi, S., Kobayashi, M., Batka, M., Vannuccini, S., Dey, M. M., & Anderson, J. L. (2013).** Fish to 2030: prospects for fisheries and aquaculture. *World Bank Report*, 83177(1), 102.
- Nandeesh, M. C., De Silva, S. S., Murthy, D. K., & Dathatri, K. (1994).** Use of mixed feeding schedules in fish culture: field trials on catla, Catla catla (Hamilton-Buchanan), rohu, Labeo rohita (Hamilton), and common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Research*, 25(6), 659-670.

- Öz, M. (2016).** Nutrition and gender effect on body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 1(1), 20-25.
- Öz, M. (2018).** Effects of garlic (*Allium sativum*) supplemented fish diet on sensory, chemical and microbiological properties of rainbow trout during storage at -18 C. *LWT*, 92, 155-160.
- Öz, M., Dikel, S. (2015).** Comparison of body compositions and fatty acid profiles of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Science and Technology*, 3(4), 56-60.
- Öz, M., Dikel, S., & Durmus, M. (2018)b.** Effect of black cumin oil (*Nigella sativa*) on the growth performance, body composition and fatty acid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(4), 713-724.
- Öz, M., Dikel, S., İnanan, B. E., Kardeş, T., Durmuş, M. U. Y., & Uçar, Y. (2017).** Borik asidin gökkuşığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin hepatosomatik ve viserosomatik indeks değerleri üzerine etkileri. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques JAVST*, 2(1), 6-10.
- Öz, M., İnanan, B. E., & Dikel, S. (2018)a.** Effect of boric acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth performance. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 990-993.
- Özşahinoğlu, I., Eroldoğan, T., Mumoğullarında, P., Dikel, S., Engin, K., Yılmaz, A. H., & Sirkecioğlu, A. N. (2013).** Partial replacement of fish oil with vegetable oils in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*): effects on growth performance and fatty acids profile. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(5), 819-825.
- Polat, A., Dikel, S., Tekelioğlu, N., & Polat, S. (1995).** Aynalı Sazan (*C. carpio*) ve Tilapiaların (*O. niloticus*) Farklı Stok Kombinasyonlarında Polikültür Yetiştiriciliği. *ÇÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(1), 109-120.
- Schroeder, G.L. (1983)** Sources of fish and prawn growth in polyculture ponds as indicated by delta C analysis *Aquaculture*, 35 pp. 29-42
- Spataru, P., Hopher, B., & Halevy, A. (1980).** The effect of the method of supplementary feed application on the feeding habits of carp (*Cyprinus carpio* L.) with regard to natural food in ponds. *Hydrobiologia*, 72(1-2), 171-178.
- Spataru, P., Wohlfarth, G. W., & Hulata, G. (1983).** Studies on the natural food of different fish species in intensively manured polyculture ponds. *Aquaculture*, 35, 283-298.
- Tang, Y. A. (1970).** Evaluation of balance between fishes and available fish foods in multispecies fish culture ponds in Taiwan. *Transactions of the American Fisheries Society*, 99(4), 708-718.
- Taşbozan, O., Gökçe, M. A., & Erbaş, C. (2016).** The effect of different growing conditions to proximate composition and fatty acid profiles of rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of applied animal research*, 44(1), 442-445.
- Tekelioğlu, N. (2005).** İç su balıkları yetiştiriciliği:(soğuk ve sıcak iklim balıkları). Adana Nobel Kitabevi, 278.
- Uddin, M. S., Miah, M. S., & Alam, M. S. (1994).** Study on production optimization through polyculture of indigenous and exotic carps. *Bangladesh J. Train. Dev.*, 7(2), 67-72.
- Wahab, M. A., Ahmed, Z. F., Islam, M. A., Haq, M. S., & Rahmatullah, S. M. (1995).** Effects of introduction of common carp, *Cyprinus carpio* (L.), on the pond ecology and growth of fish in polyculture. *Aquaculture Research*, 26(9), 619-628.
- Wahab, M. A., Rahman, M. M., & Milstein, A. (2002).** The effect of common carp, *Cyprinus carpio* (L.) and mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) as bottom feeders in major Indian carp polycultures. *Aquaculture Research*, 33(8), 547-556.
- Yashouv A., (1971)** Interaction between the common carp (*Cyprinus carpio*) and the silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in fish ponds *Bamidgeh*, 23, pp. 85-92.
- Yashouv, A., & Halevy, A. (1972).** Experimental studies of polyculture in 1971. *Bamidgeh*, 24(2), 31-39.

Isolations of *Shewanella* and *Aeromonas* Species from Silver European Eel Fish (*Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758)

Gümüş Avrupa Yılan Balığı (*Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758)'ndan *Shewanella* ve *Aeromonas* Türlerinin İzolasyonları

ABSTRACT

The aim of this study is to inform isolations of *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas sobria* and *Aeromonas veronii* from the silver European eel fish (*Anguilla anguilla*) caught from the Gulf of Antalya, Turkey. Three silver eel fish samples as freshly dead (mean weight 75 g) were obtained by a local fisherman. For presumptive identification of the bacterial strains, the strains were identified using a variety of phenotypic characteristics. The further identification of the strains was performed with PCR. Clinically, the silver eel samples showed pale gills, losses of scale, necrotic lesions on dorsal, hemorrhagies on the jaws, lateral and ventral sides of the body and around the anus and hemoragic anal fin. At necropsy, the fish had enlarged and pale spleen and the gastrointestinal tract was empty. After 72 hours, 10 bacterial strains were isolated. 6 strains as *Shewanella putrefaciens*, 2 strains as *Aeromonas sobria* and 2 strains as *Aeromonas veronii* were identified according to the phenotypical characteristics and PCR study results. The eel fish stocks in natural conditions are decreasing and this problem may be multifactorial such as disease, migration and overhunting. As a result of this study, *Aeromonas veronii* was first isolated from *Anguilla anguilla*.

Key Words: *Anguilla anguilla*, *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas veronii*, PCR

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Türkiye, Antalya Körfezi'nden yakalanan gümüş Avrupa yılan balığı (*Anguilla anguilla*)'ndan *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas sobria* ve *Aeromonas veronii*'nin izolasyonlarını bildirmektir. Üç gümüş yılan balığı örneği (75 g) yeni ölmüş olarak yerel bir balıkçıdan temin edildi. Bakteriyel suşların varsayımsal tanımlanması için, suşlar bir dizi fenotipik özellikler kullanılarak tanımlandı. Suşların ileri tanımlanması PZR ile yapıldı. Klinik olarak, gümüş yılan balığı örnekleri solgun solungaçlar, pul kaybı, dorsalde nekrotik lezyonlar, çenelerde, vücudun yan ve ventral kısımlarında ve anüs etrafında kanamalar ve hemorajik anal yüzgeç gösterdi. Nekropside, balıklar büyümüş ve solgun dalağa sahip ve mide bağırsak kanalı boştu. 72 saat sonra, 10 bakteriyel suş izole edildi. Fenotipik özellikler ve PZR çalışma sonuçlarına göre 6 suş *Shewanella putrefaciens*, 2 suş *Aeromonas sobria* ve 2 suş *A. veronii* olarak tanımlanmıştır. Doğal koşullarda yılan balığı stokları azalmakta ve bu sorun hastalık, göç ve aşırı avlanma gibi çok faktörlü olabilmektedir. Bu çalışmanın bir sonucu olarak *Aeromonas veronii*, *Anguilla anguilla*'dan ilk kez izole edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Anguilla anguilla*, *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas veronii*, PZR

INTRODUCTION

The genus *Anguilla* consists of about one hundred fish species; however, European eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus, 1758), Japanese eel (*A. japonica*, Tomminck and Schlegel, 1847) and American eel (*A. rostrata*, Lesueur, 1817) are mostly consumed eel fish species in several regions of the America, Japan and Europe countries (Caruso et al., 2014). The European eel enters European waters and some of these fish start an upstream migration to colonise at the glass eel stage. Then, they begin spawning migration back down to the sea at the silver stage (Simon, 2015).

How to cite this article,

Korun, J., Çelik, Y.S., Yılmaz, M., Gökoğlu, M. (2019). Isolations of *Shewanella* and *Aeromonas* Species from Silver European Eel Fish (*Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758). *J Adv VetBio Sci Tech*. 4(1): 9-15. DOI: <http://doi.org/10.31797/vetbio.544847>

Research Article

Jale Korun^a
Yağmur Saadet Çelik^b
Mesut Yılmaz^c
Mehmet Gökoğlu^d

Akdeniz University, faculty of aquaculture, Antalya, TURKEY

^a ORCID: 0000-0002-1930-9978

^b ORCID: 0000-0003-2877-0915

^c ORCID: 0000-0001-8799-3452

^d ORCID: 0000-0001-9723-8581

Correspondence

Jale Korun

Akdeniz Üniversitesi Kampüsü Su ürünleri fakültesi Antalya Türkiye
jalekorun@akdeniz.edu.tr

Article info

Submission: 26-03-2019

Accepted: 25-04-2019

Online published: 28-04-2019

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



e-ISSN: 2548-1150

website: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>

doi prefix: [10.31797/vetbio](http://doi.org/10.31797/vetbio)

But, population of the species has been in step decline (Dekker, 2003). All anthropogenic factors which decrease production and population of the silver eels in natural waters include chemical pollution, loss of habitat, fisheries, migration barriers and disease problems (Mariarty and Dekker, 1997; Dezfuli et al., 2014; Roland et al., 2014; ICES, 2017).

Diseases observed in fish are classified as contagious and non-contagious diseases. Infectious agents cause contagious diseases and these agents include bacteria, viruses, microparasites such as protozoan parasites and macroparasites such as trematodes and nematodes. Non-contagious diseases are caused by a variety of factors including chemical contaminants and genetic factors (Johnson and Paull, 2011). Of the infectious agents, bacterial infections are important because of having potential threat for aquaculture production systems. These infections lead to serious economic fish losses. But, they have less importance for wild fish populations (Chang and Liu, 2002; Haenen et al., 2013).

For rearing of *A. anguilla* for commercial purposes, the production of the species depends on collection of the elver and/or glass eels from natural stocks. But, any disease outbreak or infection on the wild eel population may have negative effect on the fish stock. Edwardsiellosis, vibriosis and *Aeromonas hydrophila* infections are bacterial infections and were reported from both wild and reared the European eel under the controlled culture conditions (Esteve et al., 1993; Chang and Liu, 2002; Fouz et al., 2006; Haenen et al., 2013). *Edwardsiella tarda* is one of the causative agents of edwardsiellosis (syn. red disease of eels). The infection affects seriously the eel population (Chang and Liu, 2002; Haenen et al., 2013). *Vibrio vulnificus* has three biotypes and strains of the biotype 2 are commonly associated with the eel infections (Kim et al., 2017). Esteve et al. (1993) reported disease outbreaks from an eel farm that was located in Spain in 1987 and 1988. They noticed that the etiology of the disease was complex because of isolations of *A. hydrophila*, *A. jandaei*, *Pseudomonas fluorescens* and *S. putrefaciens* from sick eel samples during epizootics and also routine survey studies.

Shewanella putrefaciens causes shewanellosis. The disease is generally characterized by necrotic and ulcerative lesions on the skin of the affected fish. Clinical findings of the disease are lethargy, swollen abdomen and necrosis of gills. At necropsy, gross lesions such as haemorrhages in spleen and petechiae on the swim bladder are observed (Paździor, 2016). Kozińska and Pekala (2004) isolated *S. putrefaciens* from common carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) which showed skin discoloration and a few fatal cases. Altun et al. (2014) reported shewanellosis on gold fish (*Carassius carassius auratus*) and the authors informed that the fish had bilateral exophthalmia, swollen abdomen, ascites, pale liver and enlarged spleen.

S. putrefaciens is a Gram-negative facultative anaerobic bacterium. It was first isolated from butter in 1931 (Kozińska and Pekala, 2004; Vignier et al., 2013). The bacterium was first reported as a fish pathogen in 1985 from rabbit fish (*Siganus rivulatus*) that was cultured at sea (Saeed et al., 1987). Kozińska and Pekala (2004) first isolated *S. putrefaciens* from a routine survey study of carp farms in Poland in 2002. After this time, the authors faced the same bacterium carp and trout farms and they isolated *S. putrefaciens* as dominant with other *Aeromonas* species. In Turkey, Korun et al. (2009) reported *S. putrefaciens* from the cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and then Altun et al. (2014) informed the pathogen from gold fish.

The genus *Aeromonas* comprises two bacterial groups. One group is non-motile psychrophilic *Aeromonas salmonicida* and the other group is mesophilic motile *Aeromonas* spp. This group includes fish pathogenic species such as *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* biogroup *sobria* and *A. veronii* biogroup *veronii* (Praveen et al. 2016; Stratev and Odeyemi, 2017). The motile *Aeromonas* species cause motile *Aeromonas* septicaemia which is termed as ulcer disease, red-sore or tail and fin rot disease. The clinical findings of the disease are haemorrhages, ulcerations, exophthalmia, ascites, pale liver and kidney (Stratev and Odeyemi, 2017). In Turkey, *A. hydrophila* was firstly reported from the farmed European eel in 1983 (Timur, 1983). From 1983 to date, some reports

of *Anguillicoloides crassus* infections of *A. anguilla* have been reported (Genç et al., 2005; Koyuncu et al., 2017).

The aim of the present study is to inform *Shewanella purefaciens*, *Aeromonas sobria* and *A. veronii* isolations from the silver European eel (*Anguilla anguilla*) samples from the Gulf of Antalya, Turkey.

MATERIAL AND METHOD

Fish samples and Bacterial Isolation

Three silver European eel (*A. anguilla*) samples as freshly dead (mean weight 75 g) were obtained by a local fisherman from the Gulf of Antalya, Turkey. Bacteriological and molecular studies were done at the research laboratory of the Akdeniz University, Faculty of Fisheries. For bacteriological study, inoculations from the head kidney, spleen and liver were made and inoculated onto Brain Heart Infusion Agar (BHIA-S). This medium was supplemented with 1.5 % NaCl and the inoculated petri dishes were incubated at 24 ± 2 °C for 72 hours. The bacterial colonies were subcultured at the end of the incubation period time.

Phenotypical characterization of the isolates

For presumptive identification of the bacterial strains, the strains were identified using motility, Gram-staining technique, biochemical reaction, sugar fermentation, salt and temperature tolerance tests according to Seeley et al. (1991).

PCR (Polymerase Chain Reaction)

Bacterial DNA was extracted using DNA extraction kit (Thermo Scientific) according to the manufacturer's instructions. The bacterial genomic DNA was adjusted by 10 mM Tris-EDTA buffer up to volume 200 µl and stored at -20 °C. The universal primers B27F (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') and U1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') were synthesized (Macrogen Inc.) and used for amplification of the 16S ribosomal DNA gene (Chu and Lu, 2005; Liu et al., 2013; Liu et al., 2014). 5 µl of genomic DNA solution in Tris-EDTA buffer was added to 45 µl of a PCR mixture consisting 2 x mix (Qiagen), 1 µl of each primer (10 nmol) and sterile water added up to 50 µl. The amplification was carried out in the thermocycler (Kyratex SC-200), initiated by 10 min of denaturation at

95 °C and then carried out for 35 cycles, with 1 cycle consisting of 45 sec of denaturation at 95 °C, 45 sec of annealing at 60 °C and 2.5 min extension at 72 °C. The reaction was lasted by heating at 72 °C for 10 min after the last cycle. A negative control with all the reaction components except the template DNA was included with each test run. Twenty microliters of the PCR reaction products were then analyzed by gel electrophoresis in 1% agarose at 8 V/cm (Figure 1). 1 kb of DNA ladder (Thermo Scientific) was used as a marker. Before sequence analysis of the PCR products, the products were purified by gel extraction kit (Machery-Nagel) used according to the manufacturer's instructions and the sequences were subjected to BioEdit V 7.2.5. program (Hall, 1999) to assemble the fragments which were compared to 16S ribosomal DNA sequences in the GenBank database using the BLASTN algorithm (Chu and Lu, 2005; Liu et al., 2014).

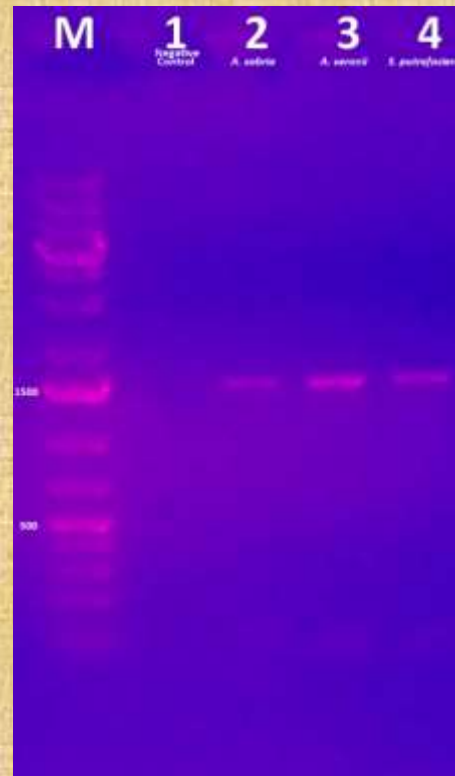


Figure 1. PCR products in gel electrophoresis (1% agarose)

RESULTS

The freshly dead silver eel samples had pale gills, losses of scale, necrotic lesions on dorsal, hemorrhagies on the jaws, lateral and ventral sides of the body and around

the anus and hemorrhagic anal fin (Figures 2 and 3). At necropsy, the fish had enlarged and pale spleen. The liver was pale and the gastrointestinal tract was empty.



Figure 2. Scale losses (arrowed) and necrotic lesions on the skin in silver eel



Figure 3. Hemorrhagic anal fin (arrowed) and hemorrhagies around the anus and ventral part of silver eel

After 72 hours of incubation period, 10 bacterial strains were isolated. 6 strains produced orange colored colonies on BHIA-S and 4 strains produced cream colored colonies were motile, Gram-negative, cytochrome oxidase and catalase positive. The strains reduced nitrate to nitrite and they showed resistance against vibriostatic agent (O/129) (10 $\mu\text{g}/\text{disk}$ and 150

$\mu\text{g}/\text{disk}$). Most *Aeromonas* species are motile and facultatively anaerobic. They give positive reactions to the cytochrome oxidase and catalase tests and produce acid from many carbohydrates. They show resistance against 150 μg of vibriostatic agent (Martin Carnahan and Joseph, 2005). The four strains from cream colored colonies depending on the bacteriological study were

tentatively identified as motile *Aeromonas* species according to Martin Carnahan and Joseph (2005). Six strains from silver eel samples produced orange colonies on BHIA-S. The strains were motile, Gram-negative, cytochrome and catalase positive and non-fermentative. The strains produced H₂S. *Shewanella putrefaciens* is motile, Gram-negative, cytochrome oxidase and catalase positive, psychrotrophic and non-

fermentative. It typically produces H₂S on Triple Sugar Iron (TSI) agar (Pekala et al., 2015). The six strains in this study were tentatively identified as *Shewanella putrefaciens* according to the study results of Pekala et al. (2015). Phenotypical characteristics of *Aeromonas* spp. and *Shewanella putrefaciens* from silver eel samples were given in Table 1.

Table 1. Phenotypical characteristics of *Aeromonas* spp. and *Shewanella putrefaciens*

Characteristic	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>S. putrefaciens</i>
Motility	+	+
Gram staining	-	-
Cytochrome oxidase	+	+
Catalase	+	+
O/F	F	NF-NO
Indol production	-	-
VP	+	+
H ₂ S production	V	+
Gelatinase	-	-
Amylase	+	V
Citrate utilization	-	-
NO ₂ production	+	+
ONPG	V	-
Acid from		
Arabinose	+	+
Fructose	+	+
Galactose	+	+
Glucose	+	+
Mannitol	+	V
Sorbitol	V	V
Xylose	+	V
Growth in		
0% NaCl	+	-
2-4% NaCl	+	+
6% NaCl	+	V
8% NaCl	-	-
Growth at		
4 °C	-	+
37	+	+
O/129 (10 µg/disk)	R	R
O/129 (150 µg/disk)	R	R

+: positive (100%), -: negative (100%), V: variable, R: resistance

The PCR product of each strain was extracted from the agarose gel and sequenced. 16S rDNA sequencing of the strains were compared with the GenBank database using the BLASTN. The closest matches were obtained with *Aeromonas sobria* (2 strains) (GenBank accession number KC573782.1; maximal score 2636, E value 0.0, and maximal identity 99% (1430/1431), A.

veronii (2 strains) (GenBank accession number KC166864.1; maximal score 2632, E value 0.0; and maximal identity 100% (1425/1425) and *Shewanella putrefaciens* (6 strains) (GenBank accession number DQ307731.1; maximal score 2627, E value 0.0, and maximal identity 100% (1422/1422).

DISCUSSION

Esteve et al. (1993) reported disease outbreaks from an eel farm that was located in Spain in 1987 and 1988. They noticed that the etiology of the disease was complex because of isolations of *A. hydrophila*, *A. jandaei*, *Pseudomonas fluorescens* and *S. putrefaciens* from sick eel samples during epizootics and also routine survey studies. In Turkey, *A. hydrophila* was firstly reported from the farmed European eel in 1983 (Timur, 1983). In this study, we isolated *S. putrefaciens* with *A. sobria* and *A. veronii* and this finding was similar to the reports of Timur (1983) and Esteve et al. (1993); however, *A. veronii* from the eel samples in the study was first isolated. The freshly dead silver eel samples showed gross haemorrhages on the body surface, enlarged spleen and pale liver in this study. These findings were similar to those of *S. putrefaciens* and the motile *Aeromonas* species (Kozińska and Pekala, 2004; Altun et al. 2014; Stratev and Odeyemi, 2017).

A variety of phenotypical characteristics of the bacterial species, genetic hybridization, reverse transcriptase sequencing and 16S rRNA sequence analysis of the species have been useful tools to identify microorganisms (Bascomb and Manafi, 1998; Austin, 2011). But, some bacterial species show some phenotypical characteristics which are similar to those of species from the same genus and this could be difficult to differentiate the bacterial species from another species (Shewan and McMeekin, 1983; Austin, 2011; Kumar et al., 2014). 16S rDNA sequencing has been accepted for the identification of pathogenic and also opportunistic bacterial species (Austin, 2011). For this reason, the bacterial strains in this study were identified by PCR technique.

As conclusion, the eel stocks in natural conditions are decreasing and this problem may be multifactorial which include disease, overhunting and migration barriers. *Shewanella putrefaciens*

and the motile *Aeromonas* species are members of intestinal bacterial flora of fish and they are also opportunistic fish pathogens. When the fish are under stress conditions, these bacterial species cause disease outbreaks and affect fish population. *Aeromonas veronii* was first isolated and identified in this study.

REFERENCES

- Altun, S., Büyükekiz, A. G., Duman, M., Özyiğit, M. Ö., Karataş, S., Turgay, E. (2014). Isolation of *Shewanella putrefaciens* from goldfish (*Carassius carassius auratus*). *Bamidgeh IJA*, 66, 956-963.
- Austin, B. (2011). Taxonomy of bacterial fish pathogens. *Vet J*, 42, 20-33.
- Bascomb, S., Manafi, M. (1998). Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-positive cocci. *Clin Microbiol Rev*, 11(2), 318-340.
- Caruso, C., Peletto, S., Gustinello, A., Arsieni, P., Mordenti, O., Modesto, P., Acutis, P. L., Mascero, L., Fioravanti, M. L., Prearo, M. (2014). Detection of a phylogenetically divergent eel virus European X (EVEX) isolate in European eels (*Anguilla anguilla*) farmed in experimental tanks in Italy. *Aquaculture*, 434, 115-120.
- Chang, C., Liu, W. (2002). An evaluation of two probiotic bacterial strain, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla*. *J Fish Dis*, 25, 311-315.
- Chu, W. H., Lu, C. P. (2005). Multiplex PCR assay for the detection of pathogenic *Aeromonas hydrophila*. *J Fish Dis*, 28, 437-441.
- Dekker, W. (2003). Status of the European eel stock and fisheries. In: Aida K, Tsukamoto K, Yamaudi K (ed's), *Eel Biology*, Springer-Verlag, Tokyo, 237-254.
- Dezfuli, B. S., Giari, L., Castaldelli, G., Lanzoni, M., Rossi, R., Lorenzoni, M., Kennedy, C. R. (2014). Temporal and spatial changes in the composition and structure of helminth component communities in European eels *Anguilla anguilla* in an Adriatic coastal lagoon and some freshwaters in Italy. *Parasitol Res*, 113, 113-120.
- Esteve, C., Biosca, E. G., Amaro, C. (1993). Virulence of *Aeromonas hydrophila* and some other bacteria isolated from European eels *Anguilla anguilla* reared in fresh water. *Dis Aquat Organ*, 16, 15-20.
- Fouz, B., Larsen, J. L., Amaro, C. (2006). *Vibrio vulnificus* serovar A: an emerging pathogen in European anguilla culture. *J Fish Dis*, 29, 285-291.

- Genç, E., Şahan, A., Altun, T., Cengizler, I., Nevşat, E. (2005).** Occurrence of the swimbladder parasite *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) in European eels (*Anguilla anguilla*) in Ceyhan River, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 661-663.
- Haenen, O. L. M., Evans, J. J., Berthe, F. (2018).** Bacterial infections from aquatic species: potential for and prevention of contact zoonoses. *OIE*, 32(2), 497-507.
- Hall, T. A. (1999).** BioEdit: a user friendly biological alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.
- ICES (International Council for the Exploration of the Sea) (2017).** ICES advice on fishing opportunities, catch and effort ecoregions in the Northeast Atlantic eel, 2737, nea, ICES pub. 3440.
- Johnson, P. T. J., Paull, S. H. (2011).** The ecology and emergence of diseases in freshwaters. *Freshwater Biol*, 56, 347-352.
- Kim, B. S., Gavin, H. E., Satchell, K. J. F. (2017).** Variable virulence of biotype 3 *Vibrio vulnificus* due to MARTx toxin effector domain composition. *mSphere*, 2(4), e00272-17.
- Korun, J., Akgün-Dar, K., Yazıcı, M. (2009).** Isolation of *Shewanella putrefaciens* from cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey. *Revue Méd Vét*, 160(11), 532-536.
- Koyuncu, C. E., Kaya, D., Özer, S., Barış, M., Genç, E. (2017).** Infection status of *Anguillicoloides crassus* in wild European eels (*Anguilla anguilla*) from four rivers of the northeast Mediterranean region. *Acta Biologica Turcica*, 30(4), 152-156.
- Kozińska, A., Pekala, A. (2004).** First isolation of *Shewanella putrefaciens* from freshwater fish—a potential new pathogen of fish. *Bull Eur Fish Pathol*, 24(4), 189-193.
- Kumar, V., Roy, S., Barman, D., Kumar, A. (2014).** Immunoserological and molecular techniques used in fish disease diagnosis: a mini review. *Int J Fish Aquat*, 1(3), 111-117.
- Liu, P. Y., Lin, C. F., Tung, K. C., Shyu, C. L., Wu, M. J., Liu, J. W., Chang, C. S., Chan, K. W., Huang, J. A., Shi, Z. Y. (2013).** Clinical and microbiological features *Shewanella* bacteremia in patients with hepatobiliary disease. *IM*, 52, 431-438.
- Liu, P. Y., Shi, Z. Y., Shyu, C. L., Wu, Z. K., Lai, K. L., Chang, C. Y., Chen, Y. J., Huang, J. A., Mao, Y. C., Tung, K. C. (2014).** Cobra bite wound infection caused by *Shewanella algae*. *Int J Infect Dis*, e11-e12.
- Mariarty, C., Dekker, W. (1997).** Management of European eel fisheries. *Fish Bull*, 15, 77-90.
- Martin Carnahan, A., Joseph, S. W. (2005).** Genus *Aeromonas* Stainer 1943. In: Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T. (ed's). *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, Springer, USA, 557-580.
- Paździor, E. (2016).** *Shewanella putrefaciens* –a new opportunistic pathogen of freshwater fish. *J Vet Res*, 60, 429-434.
- Pekala, A., Kozińska, A., Paździo, E., Glowacka, H. (2015).** Phenotypical and genotypical characterization of *Shewanella putrefaciens* strains isolated from diseased freshwater fish. *J Fish Dis*, 38, 283-293.
- Praveen, P. K., Debnath, C., Shekhar, S., Dalai, N., Ganguly, S. (2016).** Incidence of *Aeromonas* spp. infection in fish and chicken meat and its related public health hazards: a review. *Vet World*, 9(1), 6-11.
- Roland, K., Kestemont, P., Loos, R., Tavazzi, S., Paracchi, B., Belpaire, C., Diev, M., Raes, M., Silvestre, F. (2014).** Looking for protein expression signatures in European eel peripheral blood mononuclear cells after *in vivo* exposure to perfluorooctane sulfonate and a real world field study. *Sci Total Environ*, 958-967.
- Saeed, M. O., Alamoudi, M. M., Al-Harbi, A. H. (1987).** *Pseudomonad* associated with disease in cultured rabbit fish *Siganus rivulatus* in the Red Sea. *Dis Aquat Org*, 3, 177-180.
- Seeley, W., Vandemark, P. J., Lee, J. J. (1991).** *Microbes in Action: A Laboratory Manual of Microbiology*. New York: E. H. Freeman and Company.
- Shewan, J. M., McMeekin, T. A. (1983).** Taxonomy and ecology of the *Flavobacterium* and related genera. *Annu Rev Microbiol*, 37, 233-252.
- Simon, J. (2015).** Age and growth of European eels (*Anguilla anguilla*) in the Elbe River System in Germany. *Fish Res*, 37, 233-252.
- Stratev, D., Odeyemi, O. A. (2017).** An overview of motile *Aeromonas* septicemia management. *Aquaculture Int*, 25, 1095-1105.
- Timur, M. (1983).** An outbreak of disease of farmed eel (*Anguilla anguilla*) due to *Aeromonas hydrophila* in Turkey. Histopathological and bacteriological studies. *FVMAU*, 30(3), 361-367.
- Vignier, N., Barreaou, M., Olive, C., Baubion, E., Théodose, R., Hochedez, P., Cabié, A. (2013).** Human infection with *Shewanella putrefaciens* and *S. algae*: report of 16 cases in Martinique and review of the literature. *Am J Trop Med Hyg*, 89(1), 151-156.

Determination of backfat thickness with transrectal ultrasonography in cattle

Sığır sırt yağ kalınlığının transrektal ultrasonografik muayene yöntemi ile belirlenmesi

ABSTRACT

The purpose of this study is to determine the Body Condition Score (BCS), which is subjectively measured in dairy cattle with inspection and palpation of backfat thickness, objectively by using transrectal ultrasonography examination method after delivery. Forty-four cows, randomly selected from 350 dairy cattle with average 650 kg live weight and 2-6 lactation number have been used. Cows have been separated in two groups according to BCS; which are: Group 1 (BCS \leq 3) 22 cows ("V" shape observed upon lateral view of pelvis, BCS equal to or below 3) and Group 2 (BCS $>$ 3) 22 cows ("U" shape observed upon lateral view of pelvis, BCS above 3). Subcutaneous fat thickness have been determined by examining body thickness using ultrasonographic imaging above the skin. In this study, ultrasonographic images were obtained by transrectal ultrasound examination method for the first time, and backfat thickness was determined and presented for literature. In the transrectal ultrasound examination; A hand-held probe was inserted from the rectum after rectum is cleared, it was pushed forward inside the cavum pelvis, and measurements were performed on the fat tissue between the muscle and skin layers by scanning vertically using the probe on the sacral region between the upper parts of last lumbar vertebrae, sacrum and tuber coxae. Corresponding images resulting from the examination were saved on the ultrasonography device, and evaluated after being transferred in software. In result of this study, backfat thickness of BCS \leq 3 and BCS $>$ 3 groups were determined according to ultrasonography examination method, and a difference was observed between groups ($p < 0,05$). TMR (Total Mixed Ration) analysis had been done. In this study 305-day milk yields have been determined and no difference has been determined between groups ($p > 0,05$).

Key Words: Body Condition Score (BCS), Ultrasound, Transition Period

ÖZET

Sunulan çalışmanın amacı, süt sığırlarında sırt yağ kalınlığını inspeksiyon ve palpasyonla subjektif olarak ölçülerek yapılan Vücut Kondisyon Skor (VKS) tespitini, doğum sonrası transrektal ultrasonografi muayene yöntemi ile objektif olarak belirlemektir. İşletmedeki 350 adet süt sığırını içerisinde ortalama 650 kg canlı ağırlıkta, 2-6. laktasyonda rastgele seçilen 44 adet inek kullanılmıştır. İnekler VKS'una göre; 1. grup (VKS \leq 3) 22 inek (Pelvis bölgesine yandan bakıldığında VKS'nun 3 veya 3'ün altında olduğunda "V" şeklinin görülmesi) ve 2. grup (VKS $>$ 3) 22 inek (Pelvis bölgesine yandan bakıldığında VKS'nun 3'ün üstünde olduğunda "U" şeklinin görülmesi) olmak üzere inekler iki gruba ayrılmıştır. Deri altı yağ kalınlığı derinin üstünden ultrasonografik görüntü elde edilerek vücut yağlılığı ile ilgili bilgiler elde edilmektedir. Bu çalışmada ilk kez transrektal ultrason muayene yöntemi ile ultrasonografik görüntü elde edilmiş, sırt yağ kalınlığı tespit edilmiş ve literatüre sunulmuştur. Transrektal ultrason muayenesinde; avuç içine alınan prob, rektumdan içeriye sokularak, rektumun boşaltılması, cavum pelvis içinde ilerletilerek son bel omurları, sakrum ve tuber coxa'ların üst kısımları arasında kalan sakral bölge prob ile dikey taranarak, kas ile deri tabakası arasındaki yağ dokusu tespit edilerek ölçümler yapılmıştır. Muayene sonucu elde edilen uygun görüntüler ultrasonografi cihazına kaydedilmiş ve bilgisayar ortamına aktarılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, VKS \leq 3 ve VKS $>$ 3 gruplarının sırt yağ kalınlığı ultrasonografi muayenesiyle belirlenmiştir ve gruplar arasında farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). TMR (Toplam Karma Yem) analizi yapılmıştır. Bu çalışmada 305 günlük süt verimi belirlenmiştir ve gruplar arasında fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Anahtar Kelimeler: Vücut Kondisyon Skoru (VKS), Ultrason, Geçiş Dönemi

How to cite this article

Atalay H, Danyer E, Bilal T, Arslan M, Toksavul S, Yenilmez K, İpek H (2019). Determination of backfat thickness with transrectal ultrasonography in cattle. *J Adv VetBio Sci Tech*. 4(1): 16-21. DOI: <http://doi.org/10.31797/vetbio.548423>

Research Article

Hasan Atalay¹
Erdem Danyer²
Tanay Bilal³
Mikail Arslan⁴
Sinan Toksavul⁵
Kudret Yenilmez⁶
Hüda İpek⁷

¹ Balıkesir University Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, 10145, Balıkesir, TURKEY

ORCID: 0000-0002-5744-7538

² Parasitology Laboratory, Veterinary Control Central Research Institute, 06200, Ankara -TURKEY

ORCID:0000-0002-7922-7384

³ Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul-Cerrahpaşa, University 34320 Istanbul-TURKEY

ORCID:0000-0001-7258-6862

⁴ Susurluk Vocational School of Higher Education, Balıkesir University, 10600, Balıkesir-TURKEY

ORCID: 0000-0002-7882-9586

⁵ Bilcanlı Livestock Establishment. Şamlı Village Balıkesir-TURKEY

ORCID:0000-0002-2358-0314

⁶ Namık Kemal University Department of Obstetric and Gynecology, Faculty of Veterinary Medicine, 59030, Tekirdağ, TURKEY

ORCID:0000-0002-5532-0525

⁷ Aksaray University Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Aksaray, TURKEY

ORCID:0000-0003-3148-571X

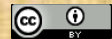
Correspondence

Hasan Atalay
hasanatalay@balikesir.edu.tr,
Phone: +902666136692/346,
Fax: +902666136657

Article info

Submission: 02-04-2019
Accepted: 17-03-2019
Online published: 28-04-2019

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



e-ISSN: 2548-1150

website: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>

doi prefix: 10.31797/vetbio.

INTRODUCTION

Body Condition Score (BCS) determination, which has been performed with inspection and palpation for years, now can be performed more objectively using technological developments. In the conventional method, backfat thickness is determined directly by using a portable, hand-held ultrasound device and measuring the amount of fat stored between skin and muscle tissue. The fat stored in high-yield dairy cows in the dry period is used for milk production by mobilization from tissues at the beginning of lactation. A Body Condition Scoring system is used in dairy cattle breeding that is increased one point at every 0.25 interval with a scale between 1 and 5 or 1 and 9. The scores given for BCS refer to the amount of fat determined in the body. A cow, BCS of which is 3 has 122 kg of body fat, while another cow with BCS of 3.5 has 146 kg of body fat (Çitil and Uzlu, 2005; Edmenson et al. 1989).

In early lactation (postpartum period), limited dry matter consumption falls behind the rapidly-increasing milk yield, and the cow drifts into negative energy balance with increased acceleration. The energy gap resulting from milk yield is compensated by body fat mobilization. Increased milk yield causes the mobilization of more body fat and a decrease in BCS. Risk of nutritional diseases is increased in high-yield cows under the pressure of negative energy (Schroeder and Staufenbiel, 2006).

Each point lost in BCS is equivalent to 400 Mcal of energy. Since 1 point-decrease in BCS is equal to 56 kg of body weight, 1 kg of body weight is equal to $400/56 = 7.14$ Mcal of energy. 400 Mcal body energy is equal to 545 kg of milk yield. 10 kg of milk is obtained by 1 kg body fat mobilization (Ferguson, 1996).

BCS is affected by the amount of nutrients spent on milk production and energy obtained from ration. Fat stored in body tissues are called as body fat reserves. Nutrition and metabolism diseases, difficult calving, decreased milk yield and infertility problems are experienced when cows are extremely fat or thin. BCS is used in order to estimate the body composition. Therefore, BCS is correlated with body composition, body fat ratio and energy content. Systems numbered from 1 to 5, or 1 to 9 are used for balance between body

composition and BCS. 1 kg of fat in the body average 9.4 Mcal energy 1 kg of protein equals 5.55 Mcal energy. It is reported that 5.47 Mcal/ kg energy is released when BCS falls from 3 to 2.1 point this means an extremely thin cow and 5 points means an extremely fat cow in 5-point system. The decreasing expected in BCS is between 0.5 and 1 in the transition period. 1-point decrease in BCS provides 417 Mcal NEL (net energy in lactation) in a 650-kg cow, and this energy supports 564 kg of milk yield. In order to have positive balance of energy during the first 3 weeks of lactation, BCS should be between 2.5 – 3.75 in the transition period–(Ferguson, 1996; NRC, 2001).

In this study, ultrasonographic images were obtained by transrectal ultrasound examination method for the first time, and backfat thickness, milk yield was determined and connection with BCS is discussed.

MATERIALS AND METHODS

Ethics Statement: The approval of experimental animal local ethics committee dated 12.03.2018 nr. 2018/5 has been obtained from Veterinary Control Central Research Institute.

Animals and Body Condition Scoring: Forty-four Holstein-Friesian cattle from a commercially licensed dairy establishment within Balıkesir province, which were selected from 350 cows with average 650 kg live weight and 2 – 6 lactation number, have been used in this study. All the cows in the study have been fed with the same Total Mixed Ration (TMR) and BCS was determined with inspection and palpation in the first 5 days after calving. In general, fat thickness is determined by using direct ultrasound and ultrasonographic images. In this study, according to BCS assessment, cows are separated in two groups as Group 1 (BCS \leq 3.00) and Group 2 (BCS $>$ 3.00). Scoring of BCS is performed by manual palpation and visual inspection. Upon lateral view of the pelvis, observing “V” and “U” shapes in the line between Tuber coxae-Tuber ischii is important for the determination of the score. Observing a “U” shape means that BCS value is above 3 (BCS $>$ 3, group 2), and observing a “V” shape means that BCS value is equal to or below 3 (BCS \leq 3, group 1). “U” and “V” shapes in the pelvis are shown in Figure 1.



Figure 1. Upon lateral view of the pelvis “V” shapes (group 1) and “U” shapes (group 2) in the line between Tuber coxae-Tuber ischii.

Transrectal ultrasonography analysis: In transrectal ultrasonography method, a hand-held probe is inserted from the rectum and backfat thickness is determined by measuring the fat thickness between fasciae through scanning vertically on the sacral region between the upper parts of last lumbar vertebrae, sacrum and Tuber coxae. There are gluteal muscles and longissimus dorsi muscles below deep fascia, there is the skin above superficial fasciae, and fat layers are present between those fasciae. There are gluteal muscles in points contacted by the probe, fat tissue above those, and skin on the top. In this study, a 7.5 MHz, real-time Linear Probe (Rectal) hand-held veterinary ultrasonography device (Honda Electronics Co., Ltd., HS-1600) has been used (Çitil and Uzlu, 2005; Schroeder and Staufienbiel, 2006). The high-frequency sound waves emitted from the device and reflected by the different density of tissues (skin, fascia, muscles, adipose tissue) was captured as images in the ultrasound, and the thickness of fat layer was measured in millimeters (Çitil and Uzlu, 2005; Schroeder and Staufienbiel, 2006). Fat thicknesses measured as per transrectal ultrasound examination

method are demonstrated according to literatures in Figure 2, 3.

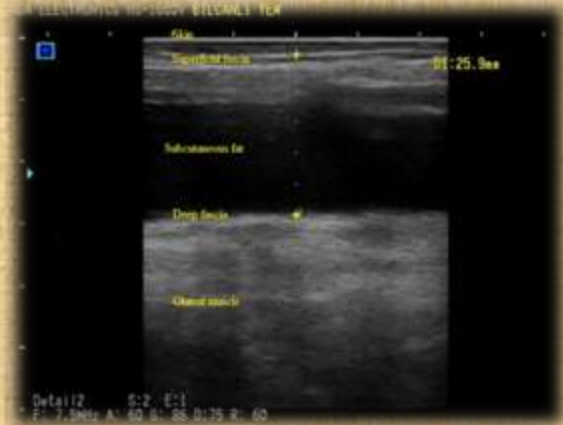


Figure 2. Transrectal ultrasonographic fat thickness (25.9 mm) in a Holstein-Friesian cow with BCS=3.25 (group 2) (57-months) on Postpartum Day 0–5 in the transition period

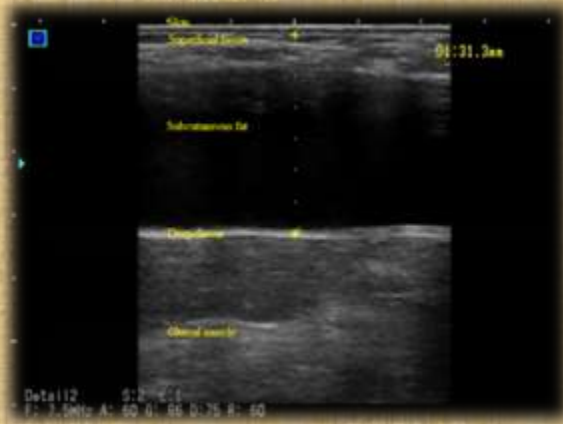


Figure 3. Transrectal ultrasonographic fat thickness (31.3 mm) in a Holstein-Friesian cow with BCS=3.25 (group 2) (43-months) on Postpartum Day 0–5 in the transition period

Statistical Analyses: IBM® SPSS® (V. 21, Armonk, NY, USA) program was used for the analysis of the data determined throughout the study. Normal distribution in results was controlled with Shapiro-Wilk test, while homogeneous distribution of variances was controlled with Levene's test. A simple linear regression analysis was used for examining the relation between BCS assessment and transrectal ultrasound measurement of fat thickness. Furthermore, mean difference between the two groups was determined with independent samples t-test. The results have been reported as mean group values and mean standard error, and statistical significance limit

Backfat thickness with transrectal ultrasonography

was assumed as $p \leq 0.05$ for all statistical analyses (Kus and Keskin, 2008; Özdamar, 2015; Sümbüloğlu and Sümbüloğlu, 2016).

Table 1. The distribution of mean backfat thickness (mm) and standard deviation (SD) according to determined BCS values.

BCS	Mean Fat Thickness (mm)	SD
2.5 (n:5)	17.84	1.44
2.75 (n:9)	25.10	1.57
3 (n:8)	29.51	1.31
3.25 (n:11)	30.46	1.50
3.5 (n:3)	32.27	2.00
3.75 (n:4)	35.33	1.36
4.25 (n:2)	41.55	1.25
4.5 (n:2)	45.60	0.10

RESULTS

The distribution of mean backfat thickness (mm) according to determined BCS values are presented in Table 1, and comparison of backfat thickness values in between groups are presented in Table 2. Mean values were compared for the two groups, and mean backfat thickness values were determined to be different in the two groups ($p < 0.001$) (Table-2).

Table 2. Comparison of backfat thickness values in between groups

Groups	Mean Value (mm)	Mean Standard Error	t value	P value
Group 1 (BCS \leq 3) (n:22)	25.05	1.01	-5.92	<0.001*
Group 2 (BCS>3.00) (n:22)	33.97	1.13		

*The difference between the groups is significant.

Upon controlling the correlation between backfat thickness determined in ultrasound measurement and BCS determined with Pearson's correlation coefficient test, r value was calculated as 0.94 and 0.95, respectively, for BCS \leq 3 and BCS > 3.00 groups ($p < 0.001$) (Table-3).

Table 3. Pearson's correlation coefficient (r) for examining the relation between groups and backfat thickness determined with ultrasound.

Groups	R	P value
Group 1 (BCS \leq 3) (n:22)	0.94	<0.001*
Group 2 (BCS>3.00) (n:22)	0.95	

*The difference between these relations is significant.

The contents of TMR and nutrient composition were determined in Balıkesir University, Veterinary Faculty, Animal Nutrition and Nutritional Diseases laboratory according to the methods indicated in AOAC (1998).

Table 4. Nutrient composition of TMR (DM %)

DM (dry matter) %	53,21
CP % (Crude protein)	17,39
EE % (Ether extract)	4,79
CC % (Crude cellulose)	14,68
CA % (Crude ash)	7,20
Nitrogen-free extract	9,15
Starch %	29,89

The contents of TMR and nutrient composition were determined and have been presented in Table 4. 305-day milk amounts have been determined between the groups and presented in Table 5 and no difference has been observed between the groups ($p > 0.05$). According to results in group 1 mean milk yield was calculated 8021.5 and in group 2 mean milk yield was observed as 8679.36 ($p > 0.05$).

Table 5. Comparison of 305-day milk yield between the groups.

Group	Mean Value	Standard Errors Mean	P value
Group 1 (BCS \leq 3) (n:22)	8021.5	509.54	0.39
Group 2 (BCS>3.00) (n:22)	8679.36	565.93	

DISCUSSION

It has been stated that direct ultrasound measurements of backfat thickness is between 8 - 40 mm in cows in the first postpartum week (Hussein et al., 2013). Although mean backfat thickness is 51 mm in Simmental cows, it was stated that backfat thickness is 35 mm in Holstein cows. No association has been reported between milk yield and BCS (Schäfers, 2000). Backfat thickness should be between 20-25 mm in the dry period and cows should maintain this level of backfat thickness throughout dry period. At the beginning of the preparation period, BCS was determined to decrease as a result of lipid mobilization in body fat tissues. Sufficient fat storage has a positive

effect on milk yield and reproduction performance. Increased level of ketone bodies is an unfavorable state in cows with good condition. Greater mobilization of fat tissue in the transition period poses a negative effect of dry matter consumption, and this is stated to change the blood levels of the animal (Daetz, 2009).

In direct ultrasound measurements, backfat thickness in cows with $BCS \leq 3$ (very poor body condition – good body condition) was determined to be below 20 mm, while it was determined to be between 20 mm to 35 mm and above in cows with $BCS > 3$ (good body condition – very fat body condition). The amount of fat in the body was below 122 kg in cows with $BCS \leq 3$, and between 122-194 kg in cows with $BCS > 3$ (Çitil and Uzlu, 2005; Edmenson et al., 1989).

Four cows with $BCS \leq 3$ received help in birth. In a study performed with 134 cows investigating the effects of low BCS and narrow birth canal on difficult labor, it was concluded that these parameters had 12% effect on difficult labor (Wesley, 2002). In another study investigating the factors resulting in difficult labor in cattle, it was stated that pelvic area was a distinctive factor for difficult labor in Herford and Angus cows and it posed higher significance than BCS as a determining factor (Zaborski et al., 2009). No association was determined between BCS and difficult labor in a 15-year study performed on 2384 cows (Berry et al., 2007). Low BCS and negative energy level are also considered to cause difficult labor. However, no significant association has been observed between BCS values and difficult labor as it can be seen from the results of our study. It has been stated that there is a significant link between haematocrit, MCV, MCHC and neutrophil values and difficult labor (Yıldız et al., 2011).

While no retained placenta was observed in $BCS \leq 3$ group, it was observed in three cows (13.64%) in the other ($BCS > 3$) group. In a study investigating the relation between retained placenta and BCS, retained placenta was observed in $BCS > 3$ cows in parallel with our results, and as a result it has been recommended to avoid fattening nutrition styles in the dry period (Zonturlu et al., 2008).

It has been stated that the prevalence of mastitis is increased due to immune system suppression in cows

with high BCS resulting from faster weight loss and ketosis after calving (Valde et al., 2007). This statement is in parallel with our study since low BCS group experienced 50% less mastitis in our study. In a study investigating the relation between subclinical mastitis and BCS, no statistically significant difference was determined in terms of subclinical mastitis rate in cows separated in three groups according to BCS (Atasever and Erdem, 2009).

Abomasal displacement was only observed in one cow from each group in our study. It has been reported that high BCS may cause abomasal displacement in cows (Sen et al., 2015; Cameron et al., 1998). In a study performed on 732 cows, it has been determined that 2.5-fold higher ketone bodies were formed in cows with $BCS < 3.5$ during delivery (Gillund et al., 2001).

It has been stated that cows with extreme condition, cows with $BCS > 3.5$ and cows with backfat thickness higher than 26 mm enter negative energy level, and they are prone to nutritional diseases in the transition period. It has also been stated that inflammatory state of the liver has a tendency to increase nutritional diseases in transition period alone and/or with other nutritional diseases (Hayırlı et al., 2016).

Although the visual and manual palpation methods for the determination of BCS give a general idea, it is recommended to perform this measurement with ultrasound in order to obtain objective data. A significant parallelism was determined between BCS and backfat thickness determined with direct ultrasound in a study performed on cows with BCS between 2.5 and 4.5. A significant difference was determined between $BCS \leq 3$ and $BCS > 3.00$ groups with regard to backfat amount (Hussein et al., 2013).

CONCLUSION

As a result, body fat is mobilized since the energy requirement in the postpartum period is not met with feed, and changes are observed in BCS for this reason. Knowing the level of body fat at calving provides information on the amount of energy stored in the body. Waist to thigh fat thickness was determined with real time transrectal ultrasonography method. Determined fat thickness was compared with body condition score, and waist to thigh fat thickness and the

level of fat stored in the body were found with the determined BCS level. Since 80% of cows in the transition period are in the negative energy balance, changes in BCS provide information about the level of mobilized and stored fat.

REFERENCES

- AOAC (1998) Official Methods of Analysis (16th Edition) Association of Analytical Chemist Vols. I and II, Revision. Gaithersburg, Maryland; 20877-2417 USA
- Atasever, S., Erdem H. (2009). Association between subclinical mastitis markers and body condition scores of Holstein cows in the Black Sea region, Turkey. *J Anim Vet Adv*, 8: 476-480.
- Berry, D.P., Lee, J.M., Macdonald, K.A., Roche, J.R. (2007). Body condition score and body weight effects on dystocia and stillbirths and consequent effects on postcalving performance. *J Dairy Sci*, 90: 4201-4211, DOI:10.3168/jds.2007-0023
- Cameron, R.E.B., Dyk, P.B., Herdt, T.H., Kaneene, J.B., Miller, R., Bucholtz, H.F., Liesman, J.S., Vandehaar, M.J., Emery, R.S. (1998). Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *J Dairy Sci*, 81: 132-139, 1998. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(98)75560-2
- Çitil, M., Uzlu, E. (2005) Die Beurteilung der Körperkondition mit Hilfe des Ultraschalls bei der Frühdiagnose der Postpartalen Erkrankungen bei Milchkuh. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 11: 201-206.
- Daetz, C. (2009) Untersuchungen zur Konditionsentwicklung bei Milchkuhen in der Trockenstehperiode mittels ultrasonographischer Messung der Rückenfettdicke und deren Einfluss auf Leistung, Fruchtbarkeit und Tiergesundheit in der Frühlaktation, Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin, <https://d-nb.info/1024541932/34>, Date of access: 06.10.2018.
- Edmenson, A.J., Lean, I.J., Wear, L.D., Farver, T., Webster, G. (1989) A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, 72: 68-78, DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0).
- Ferguson, J.D. (1996) Implementation of a body condition scoring programme in dairy herd. Proceeding of the Penn Conference. University of Pennsylvania, School of Veterinary Medicine, www.vet.upenn.edu. Date of access: 10.08.2018.
- 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, DOI:10.3168/jds.S0022-0302(01)70170-1.
- Hayırlı, A., Dogan, V., Kaynar, O., Cengiz, M., Ballı, B. (2016) Evaluation of Peripartum Prognostic and Diagnostic Markers in Dairy Cattle. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci*, 2: 63-80.
- Hussein, H.A., Westphal, A., Staufenbiel, R. (2013). Relationship between body condition score and ultrasound measurement of backfat thickness in multiparous Holstein dairy cows at different production phases. *Australian Vet J*, 91: 185-189, DOI:10.1111/avj.12033.
- Kus, C., Keskin, I. (2008). A study on levene and bartlett tests. *Selcuk Tar Gida Bil Derg*, 22: 78-83.
- NRC (National Research Council) (2001). Nutrient Requirements of dairy cattle. Washington DC: National Academies Press,
- Özdamar, K. (2015). Biostatistics with SPSS (10th ed.). Eskisehir: Nisan Kitabevi Yayınları.
- Schäfers, M. (2000). Untersuchungen zur Körperkonditionsbeurteilung bei Milchkuhen der Rasse "Fleckvieh" unter den Haltungsbedingungen des nördlichen Oberbayerns, Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, https://edoc.ub.unimuenchen.de/17560/1/Schaefers_Matthias.pdf, Date of access: 05.10.2018.
- Schroeder, U.J., Staufenbiel, R. (2006). Invited review: methods to determine body fat reserves in dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness. *J Dairy Sci*, 89, 1-14, DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72064-1.
- Sen, I., Wittek, T., Guzelbektes, H. (2015). Metabolic indicators and risk factors of left displaced abomasum in dairy cattle. *Eurasian J Vet Sci*, 31: 63-69.
- Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V. (2016) Biyoistatistik /17.ed.) Hatipoğlu yayınevi, Ankara
- Valde, J.P., Lystad, M.L., Simensen, E., Østerås, O. (2007). Comparison of feeding management and body condition of dairy cows in herds with low and high mastitis rates. *J Dairy Sci*, 90: 4317-4324, DOI:10.3168/jds.2007-0129.
- Wesley, A.M. (2002). The relationship between prepartum dietary energy intake and pelvic area on dystocia. Texas A&M University PhD Dissertation. Texas, USA.
- Yıldız, H., Saat, N., Simsek, H. (2011). An investigation on body condition score, body weight, calf weight and hematological profile in crossbred dairy cows suffering from dystocia. *Pak Vet J*, 31: 125-128.
- Zaborski, D. Grzesiak, W., Szatkowska, I., Dybus, A., Muszynska, M., Jedrzejczak, M. (2009). Factors affecting dystocia in cattle. *Reprod Domest Anim*, 44: 540-551, DOI:10.1111/j.1439-0531.2008.01123.x.
- Zonturlu, A.K., Uren, N., Ozyurtlu, N., Bozkurt, G., Alpaslan, B.M. (2008) Comparison of Ages, Milk yield, Body Condition Score (BCS) and Serum Selenium Levels in Cows with Retained Placenta. *FU Sag Bil Derg*, 22: 127-130.

An unusual outcome for fetal death in bitch: a case report**Köpek fetal ölümlerinde nadir bir durum: Olgu sunumu****ABSTRACT**

In this report, an unusual condition of fetal maceration conveyed with retention of fetal debris was diagnosed 5-months after breeding in a hound bitch. A five-year-old, 13 kg weighted bitch was brought to Adnan Menderes University Animal Hospital with complaints of loss of appetite and abdominal distention, five months after breeding. Although presenting a distended abdomen and mammary glands, no signs of parturition have been reported. At surgery, a reddish free intra-abdominal fluid was suctioned, and hysterectomy was performed; ovaries were not excised to avoid any compromise of hunting performance. Fur and bone remnants floating in a brown-green, mucous and odorless fluid were detected at inspection of the uterus. In this case, the evaluation of the uterus showed that all the fetuses underwent maceration and autolysis at least 3 months after the pregnancy putative. Although it was seen that compatible with chronic uterine inflammation findings (leukocytosis and anemia), closed cervical position and odorless uterine content may be an unusual sequel to canine fetal death.

Keywords: Fetal maceration, clinical findings, bitch.

ÖZET

Bu raporda bir av köpeğinde çiftleşmeden 5 ay sonra görülen fetal kalıntı tutulumlu, farklı formdaki fetal maserasyon olgusu sunulmuştur. Beş yaşlı, 13 kg ağırlığındaki av köpeği çiftleştikten 5 ay sonra gözlenen iştahsızlık ve karında şişkinlik nedeni ile Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne getirildi. Karın ve meme bezlerinde büyüme görülmesine karşın, doğum belirtilerine rastlanmadığı kaydedildi. Operasyonda, batin içinde gözlenen kırmızımsı serbest sıvı (1,8L) aspire edildi, histerektomi yapıldı ancak av performansının etkilenmemesi için ovaryumlar bırakıldı. Uterusun inspeksiyonunda kahverengi-yeşil, muköz ve kokusuz sıvı içerisinde yüzen kemik ve tüy kalıntıları görüldü. Bu olguda, uterus incelemeleri sonucu beklenen gebeliğin başlangıcından en az 3 ay içinde tüm fetüslerin maserasyon ve otolize uğradığını göstermiştir. Kronik uterus yangısı ile uyumlu bulgular (leukositozis ve anemi) görülmesine karşın, kapalı serviks ve kokusuz uterus içeriği köpeklerdeki yavru ölümlerinde nadir görülen bir sekel olarak değerlendirilebilir

Anahtar kelimeler: Fetal maserasyon, klinik bulgular, köpek

INTRODUCTION

The follow-up of fetal mortality has variations in companion animals including mummification, maceration, partial and complete abortion (Romagnoli, 2002). Fetal maceration is rare in bitches and results from the failure of the expulsion of the aborted fetus (Johnston et al., 2001).

The delaying of death fetal delivery which is related to uterus inertia causes uterine bacterial invasion from open cervical canal. This bacterial invasion causes fluid softening, autolysis, and maceration process to occur in fetal soft tissues and fetal bones float in uterine lumen (Johnston et al., 2001). Due to limited studies (Gill, 2001; Tønnessen et al., 2012) the knowledge on canine fetal maceration is based on sporadically case presentations (Max et al., 2015).

How to cite this article

Güneş, E., Akkuş, T., Payan-Carreira, R. (2019). An unusual outcome for fetal death in bitch: a case report. *J Adv VetBio Sci Tech*. 4(1): 22-25. DOI: <http://doi.org/10.31797/vetbio.506367>

Review

Güneş Erdoğan¹
Tuğra Akkuş²
Rita Payan-Carreira³

¹ Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Aydın, Turkey
[ORCID: 0000-0002-9807-810X](https://orcid.org/0000-0002-9807-810X)

² Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Şanlıurfa, Turkey
[ORCID: 0000-0002-6002-5942](https://orcid.org/0000-0002-6002-5942)

³ CECAV, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal
[ORCID: 0000-0001-5225-4510](https://orcid.org/0000-0001-5225-4510)

Correspondence

Tuğra Akkuş
tugraakkus08@hotmail.com
Tel: 0(414)318 30 00

Article info

Submission: 01-01-2019
Accepted: 08-04-2019
Online published: 28-04-2019

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



e-ISSN: 2548-1150

website: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>

doi prefix: [10.31797/vetbio](https://doi.org/10.31797/vetbio).

Moreover, in the majority of cases the absence of general symptoms in the mother leads to misinterpretation of the diagnosis. (Gill, 2001). Fetal death symptoms and patient's prognosis are variable in dogs. Brown-greenish colored vaginal discharge, depression, and general findings are frequently seen at the putative parturition date (Jones et al., 1997; England, 1998; Linda-Forsberg, 1998; Johnston et al., 2001; Jackson, 2004; Fasulkov et al., 2014), however, there are some cases recorded without any systemic findings (Serin and Parin, 2009; Sagar et al., 2017).

In this case report, a different form of fetal maceration with the fetal tissue retention seen in five months after mating is described with perioperative clinical findings.

CASE HISTORY

A five years old female hound weighing 13 kg was referred for examination at the Animal Hospital of Adnan Menderes University with loss of the appetite for last three days, and also abdominal distention seen five months after breeding. The owner reported there had been distension on the belly and mammary glands, but no signs of parturition during this stage. The abdomen was mildly enlarged and abdominal palpation revealed fluctuation not accompanied by pain and fetal bump on palpation (Figure 1). Her temperature was 38.9 °C, and pulsation was normal. The hematological exams showed leukocytosis (WBC: 25.10x10³/μl) and anemia (RBC: 4.30x10³/ μl) while the other blood counts and biochemical parameters were within reference values.

Transabdominal ultrasound revealed hypoechoic fluid in the abdomen and hyperechoic fluid in the enlarged uterus (Figure 2). Abdominal radiography revealed small radiopaque masses consistent with fetal bones.

This case was diagnosed as fetal loss with fetal debris and medial celiotomy was performed. At surgery, reddish free intra-abdominal fluid (1.8 L) was suctioned, and hysterectomy was performed (Figure 3); ovaries were not excised to avoid any compromise of hunting performance. Fur and bone remnants floating in a brown-green, mucous and odorless fluid

were detected at inspection of the uterus (Figure 4). The abdomen washed with sterile warm saline and closed with simple continuously absorbable sutures.



Figure 1. Mild abdominal distention



Figure 2. Intraabdominal (a) and intrauterine (b) fluid accumulation



Figure 3. Intraabdominal fluid aspirated at the operation



Figure 4. Bone and fur debris after incision of uterus

400.000 IU penicillin (Iecilline®; IE Ulagay) was administered intramuscularly for seven days postoperatively. A protective Elizabethan collar was placed. She recovered uneventfully following a week after surgery. There was no complication during the six months of postoperative stage.

DISCUSSION

The estimation of parturition date by using different methods (detection of LH peak, recording of the estrus and mating dates, fetal biometry etc.), and also fetal monitoring plays an important role on the diagnosis and early treatment of some perinatal problems in

dogs. Regarding to the various outcomes of fetal death, these examination results are very supportive on the optimal assessment of maternal situation, but there were very limited records in our case. Besides, it was not easy to find mutual features between this case and previous reports having various history and symptoms.

Despite the fact that the interaction between fetal maceration cases and prolonged pregnancies caused by progesterin (González-Domínguez and Maldonado-Estrada, 2006) and hCG injections (Urhausen et al., 2009) are well known, there was no progesterone application in anamnesis. Moreover, other specific disorder like ectopic fetal maceration cases due to excessive oxytocin (Sagar et al., 2017), external trauma (Jackson, 2004; Fasulkov et al., 2014), and any infectious diseases haven't been stated by owner. Therefore, the actual reason of the fetal loss could not be determined in this case.

There have been several clinical reports about intra/extra uterine fluid accumulation following fetal death having no evident effect on the mother's general condition (Serin and Parm, 2009; González-Domínguez et al., 2010; Fasulkov et al., 2014). In those reports, it can be considered that the vaginal drainage of the fetal debris could help preventing maternal sepsis (Serin and Parm, 2009; González-Domínguez et al., 2010). Also, another ectopic fetal maceration case had been diagnosed much earlier (Fasulkov et al., 2014) than our case. Additionally, fetal maceration cases are characterized by full odor vaginal discharge and septicemia findings in various degrees (England, 1998; Johnston et al., 2001). Bodh et al., (2014) observed foul and fetoid discharges from the vulva of animals with fetal maceration. Unlike those typical symptoms in literature, the vaginal discharge was not seen due to closed cervical canal, and also her loss of appetite was detected only in the last week. Uterine distention, and leukocytosis related to chronic infection revealed the fetal maceration followed by ultrasonographic examination and laboratory analysis. Although a number of non-specific bacteria, including *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Proteus* and *Pseudomonas* have been identified in many cases of fetal maceration (England, 1998), odorless uterine contents of this case was considered as no need for

bacterial cultivation. Therefore, no microbiological examination was performed.

As a conclusion, veterinarians should perform regular examinations on pregnant dogs regarding various disorders affecting mothers' general health and future fertility, even if they do not show any pathological signs. By using ultrasonography and other necessary interventions during feto-maternal monitoring, early and accurate treatment can be performed in related cases.

REFERENCES

- Bodh, D., Gugjoo, MB., Rafee, M.A., Singh, K. (2014).** Uterine rupture and fetal maceration in an indian mongrel bitch. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 1(4), 49-52.
- England, G. (1998).** Pregnancy diagnosis, abnormalities of pregnancy and pregnancy termination. In: England G, Harvey M (ed's), *Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*. BSAVA Manuals, Hampshire, 118-119.
- Fasulkov, I., Atanasov, A., Antonov, A. (2014).** A Clinical case of foetal maceration and posttraumatic uterine rupture in a bitch. *Istanbul Univ Vet Fak Derg*, 40(2), 261-269.
- Gill, M.A. (2001).** Perinatal and late neonatal mortality in the dog. PhD thesis, The University of Sydney, 50-51.
- González-Domínguez, M.S., Maldonado-Estrada, J.G. (2006).** Prolonged pregnancy associated to an inappropriate medroxyprogesterone acetate prescription in a bitch: Is rational and ethics the use of exogenous progestin in the bitch? *Rev. Colomb. Cien. Pecuarias*, 19, 442-450.
- González-Domínguez, M.S., Hernandez, C.A., Maldonado-Estrada, J.G. (2010).** Protective compromise of great omentum in an asymptomatic uterine rupture in a bitch: a case report. *Rev. Colomb. Cien. Pecuarias*, 23, 369-376.
- Jackson, P.G.G. (2004).** Normal birth. In: Jackson PGG (Ed), *Handbook of Veterinary Obstetrics*. 2nd ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1-12.
- Johnston, S.D., Kusritz, M.V.R., Olson, P.N.S. (2001).** Canine pregnancy. In: Johnston SD (Ed), *Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia, W.B. Saunders, 88.
- Jones, T.J., Hunt, R.D., King, N.W. (1997).** Genital system. In: *Veterinary Pathology*. Lippincott William and Wilkins, Baltimore, 1149-1222.
- Linda-Forsberg, C., and Eneroth, A. (1998).** Parturition. In: Simpson GM (Ed), *Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*. Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association 1998, 127-142.
- Max, A., Jurka, P., Bartyzel, B.J., Grzegorzolka, B. (2015).** Foetal mortality in dogs and cats not related to spontaneous abortions. *Folia Pomer Univ Technol Stetin Agric Aliment Pisc Zootech*, 316(33), 81-88.
- Romagnoli, S.** Complications in canine pregnancy and their clinical approach. *Proceedings of the Veterinary Sciences Congress*, Oeiras, 10-12 Out 2002, 159-162.
- Sagar, P.V., Kumar, P.R., Raghunath, M. (2017).** Ectopic fetal maceration in a Labrador bitch. *Livestock Science*, 8, 8-10.
- Serin, G., Parn, U. (2009).** Recurrent vaginal discharge causing by retained foetal bones in a bitch: a case report. *Vet Med-Czech*, 54(6), 287-290.
- Tønnessen, R., Borge, K.S., Nødtvedt, A., Indrebø, A. (2012).** Canine perinatal mortality: A cohort study of 224 breeds. *Theriogenology*, 77, 1788-1801. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.12.023
- Urhausen, C., Schöne, J., Meyer-Lindenberg, A., Günzel-Apel, A.R. (2009).** An extraordinary iatrogenic prolongation of pregnancy in a German Shepherd Dog. A case report. *6th EVSSAR Annual Symposium*, Wrocław, 79.

İnsanlarda kene ile bulaşan hastalık etkenleri ve Türkiye'deki mevcut durumu

Tick-borne diseases agents in humans and current situation in Turkey

ÖZET

Vektörler ve vektörler ile bulaşan hastalık etkenleri önemli problemlere neden olurlar. Keneler memeli, kuş ve sürüngenler gibi pek çok canlının kanıyla beslenen vektörlerdir. Keneler kan emmeleri esnasında 200 kadar virüs, bakteri, riketsiya, spiroket, protozoon ve helmint türlerini nakledebilirler. Kenelerin insanlara naklettiği başlıca hastalık etkenleri; Kırım-Kongo kanamalı ateşi virusu, kene kaynaklı ensefalit virusu, Powassan ensefalit virusu, Kyasanur orman hastalık virusu, Colorado kene ateşi virusu, *Babesia* spp., *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Francisella tularensis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* ve *Rickettsia rickettsii*'dir. İnsanlara kenelerle bulaşan mikrobiyal hastalık etkenleri; oluşturduğu hastalık, vektör, epidemiyoloji, belirtiler, tanı ve tedavi bakımından bu derlemede özetlenmiş ve Türkiye'deki mevcut durumu sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Kene, kene ile bulaşan hastalık etkenleri, mevcut durum, Türkiye.

ABSTRACT

Vectors and vector-borne diseases agents cause significant problems. Ticks are blood feeding vectors on many living creatures such as mammals, birds and reptiles. Ticks can transmit up to 200 viruses, bacteria, rickettsia, spirochetes, protozoa and helminth species during blood sucking. The main diseases agents that ticks transmit to humans are; Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, tick-borne encephalitis virus, Powassan encephalitis virus, Kyasanur forest disease virus, Colorado tick fever virus, *Babesia* spp., *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Francisella tularensis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Rickettsia rickettsii*. Microbial pathogens transmitted by ticks to humans in terms of caused diseases, vector, epidemiology, symptoms, diagnosis and treatment were summarized in this review and current situation in Turkey presented.

Keywords: Tick, Tick-borne diseases agents, current situation, Turkey

GİRİŞ

Keneler ve kenelerle bulaşan etkenlerin oluşturduğu hastalıklar tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de son derece önemlidir (Inci ve ark., 2016a). Keneler; mekanik ve biyolojik vektörlük yapabilen önemli ektoparazitlerden olup; Artropoda anacı, Chelicerata anaç altı, Arachnida sınıfı, Acari sınıf altı, Metastigmata dizisi, Ixodidae üst ailesi içinde yer alırlar (Dumanlı ve ark., 2016). Dünya'da toplam 896 kene türü tespit edilmiş olup, bunlardan Ixodidae ailesine ait 702, Argasidae ailesine ait 193 ve Nuttalliellidae ailesine ait bir tür bulunmuştur. Türkiye'de ise; Ixodidae ailesinde altı soyda 39 ve Argasidae ailesinde üç soyda sekiz olmak üzere toplam 47 kene türü rapor edilmiştir (Inci ve ark., 2016b).

How to cite this article

Aydın, M.F., Coşkun, A. (2019). İnsanlarda kene ile bulaşan hastalık etkenleri ve Türkiye'deki mevcut durumu. *J Adv VetBio Sci Tech.* 4(1): 26-32. DOI: <http://doi.org/10.31797/vetbio.486679>

Review

Mehmet Fatih Aydın¹
Ayşe Coşkun²

¹ Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Halk Sağlığı Hemşireliği Anabilim Dalı, 70100, Karaman, Türkiye
[ORCID: 0000-0002-8325-4887](https://orcid.org/0000-0002-8325-4887)

² Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fen Bilimleri ve Teknolojileri Anabilim Dalı, 70100, Karaman, Türkiye
[ORCID: 0000-0003-4538-8873](https://orcid.org/0000-0003-4538-8873)

Correspondence

Mehmet Fatih Aydın
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik
Bölümü, Yunus Emre Yerleşkesi,
Karaman
veterinermf@gmail.com
+90 338 226 2000/4310
Faks: 0338 226 2134

Article info

Submission: 22-11-2018
Accepted: 14-03-2019
Online published: 28-04-2019

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



e-ISSN: 2548-1150
website: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>
doi prefix: 10.31797/vetbio.

Keneler; konaktan kan emerken hastalık etkenini bulaştırmasının yanında, transovarial, transstadial, venereal ve non-viremik nakil şekilleriyle de yeni nesillerini, bir sonraki gelişim dönemlerini, çiftleşme sırasında birbirlerini ve kan emdikleri konakta herhangi bir hastalık etkeni olmasa da eşzamanlı olarak aynı konak üzerinde beslenen (co-feeding) enfekte olmayan keneleri enfekte edebilirler. Bunun bir sonucu olarak da kene ile bulaşan hastalık etkenleri, nesilden nesile, bir canlı türünden farklı canlı türüne, hatta farklı coğrafi bölgelere aktarılabilir. Zorunlu kan emicilerden olan keneler hayat döngülerini tamamlayıp bitirinceye kadar kan emmek için karşılaştıkları tüm canlılar risk grubu altındadır (Dantas-Torres ve ark., 2012).

Kenelerin Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri

Morfolojik olarak Ixodidae ailesindeki keneler sert kene, mera kenesi, açık alanda yaşayan keneler olarak adlandırılır. Ekolojik anlamda keneler: Nidicolous; yuvaya bağımlı, mesken kenesi, Nonnidicolous; açık alanda yaşayan mera kenesi olarak sınıflandırılabilir (Vatansever, 2008). Vücutları tek bir parçadan oluşur. Ağız organelleri vücudun ön kısmında yer alır, bu kısma capitulum denir. Özellikle Ixodidae ailesindeki kenelerin vücutları çok katlı kütikula ile örtülüdür.

Keneler gelişme dönemlerinde cinsiyetlerine göre farklılık (seksüel dimorfizm) gösterirler. Erkeklerde tüm vücudu kaplayan kitin tabakası conscutum olarak adlandırılırken, dişilerde ise yaka şeklinde vücudun ön kısmında bulunan bu kitin yapının adı scutum'dur. Genital delik orta önde, anüs ise arka taraftadır. Erkek keneler kitin tabakaları nedeniyle çok fazla kan ememezler, dişî kenelerin ise tüm vücudunu kitin tabakası kaplamadığı için ise erkek kenelere kıyasla çok daha fazla miktarda kan emebilirler ve ağırlıkları kan emmeden öncekine göre 200 katına kadar çıkabilir. Kenelerin ağız yapıları son derece önemlidir ve bir çift chelicera, bir çift palp ve tek olan hipostomdan oluşur. Chelicera'nın görevi; kene kan emeceği zaman hipostomun deriye girmesini sağlamak için deriyi perfora etmektir. Palpler ise kenenin konağa yapışmasına katkıda bulunurlar. Perfora olan derideki kan havuzunda hipostom, sement adı verilen bir yapıştırıcı madde ile bölgeye sabitlenir ve kan emme

süresince o bölgede kalır. Keneler larva dönemlerinde üç çift, nimf ve erişkin dönemlerinde ise çift bacağı sahiptir. Ixodidae ailesindeki kenelerin bacaklarında düz satırlara yapışma ve tırmanmayı sağlayan pulvillus adı verilen yapılar bulunmaktadır (Estrada-Peña ve de la Fuente, 2014).

Keneler biyolojik olarak; ilkbahar, yaz ve sonbahar aylarında aktiftir (Dumanli ve ark., 2012; Aydın ve ark., 2012). Kış aylarını kuytu yerlerde ya da hayvan barınaklarında inaktif olarak geçirirler. Ömürleri ortalama üç ay iken kış uykusuyla beraber bir yılı da bulabilmektedir. Larvadan nimfe, nimfden erişkinliğe şeklinde ki hayat döngüsünü bir, iki ya da üç konaklı evrede tamamlayabilir. Her evrede doygunluğa erişen kene gömlek değiştirir. Bütün yaşam dönemlerinde kan emmek zorundadırlar. Erkek kene çiftleşme sonrasında, dişî kene ise yumurtlamadan sonra ölür. *Hyalomma marginatum*'unda içinde yer aldığı aktif avcı keneler, konaktan çevreye yayılan karbondioksit, amonyak, vücut ısısı gibi uyarıları algıladıklarında, saklandıkları yerden çıkarak konağa saldırırlar. Konakta ilk olarak yer arayışında bulunurlar. Özellikle yumuşak kulak kepçesi içi ve dışı, boyun altı, karın, anal, perianal bölge gibi bölgelerde tutunup tükürük salgısı ile tutunduğu yeri duyarsızlaştırarak, hipostomu içeri sokar ve bu arada zamk gibi yapışkan bir madde salgılar. Bu esnada bölgedeki kılcal damarlar parçalanır ve sızan bölgede kan havuzu oluşur. Kene bu havuzdan beslenerek doygunluğa ulaşır (Aktaş ve Vatansever, 2014).

Vektör Konak İlişkisi

Vektörler ve vektörlerle bulaşan hastalık etkenleri günümüzde önemli sağlık problemlerine yol açmaktadır. Toplumda kene ve kene ile bulaşan hastalık etkenlerine karşı farkındalık giderek artmakla birlikte, özellikle doğru bilinen yanlış uygulamalar bu tür hastalıkların oluşumuna ve yayılışına zemin hazırlamaktadır (Aydın ve Dumanli, 2017). Keneler kan emerken salgıladıkları toksik maddeler ile alerji ve felç gibi ciddi hastalıklara da sebep olabilirler (Gargılı, 2009). Kene biyolojisi genel manada aynı olmakla birlikte her türün kendine has biyolojik farklılıkları ve konak tercihleri olabilmektedir. Bununla beraber keneler öncelikli tercihlerindeki konaklara

ulaşamadıklarında diğer konaklardan da kan emebilirler.

Üç konaklı yaşam döngüsüne örnek olarak; *Ixodes ricinus*, *Hy. excavatum*, *Rhipicephalus turanicus*, *Dermacentor marginatus* türlerini görmekteyiz. Tüm bu yaşam döngüsü göz önüne alındığında kenelerin geniş bir konak ağına sahip olduğu görülmektedir. Küçük kemirgenlerden köpeklere, atlardan geyiklere, sığırlardan kuşlara kadar çok çeşitli konaklara erişebilirler. Keneler iklimsel değişikliklerden ve küresel ısınma gibi çevresel faktörlerden de etkilenerek adaptasyon ve uyum geliştirmekte ve kuşların göçleri nedeniyle farklı coğrafyalara aktarılmaktadır. Konaklara hastalık etkenlerinin taşınmasının yanı sıra oluşturdukları lezyonlarla ikincil enfeksiyonlara da yol açabilmektedir (Vatansever, 2008).

İnsanlarda Kene ile Bulaşan Hastalık Etkenleri

Keneler tarafından insanlara nakledilen önemli mikrobiyal hastalık etkenleri; oluşturduğu hastalık, vektör, epidemiyoloji, hastalık belirtileri ve tedavileri bakımından viral, protozoal, bakteriyel, riketsiyal hastalıklar alt başlığında incelenmiştir.

Viral Hastalıklar

İnsanlarda kene ile bulaşan önemli viral hastalık etkenleri; Kırım-Kongo kanamalı ateşi (KKKA) virüsü, kene kaynaklı ensefalitis virüsü (TBE), Powassan ensefalitis virüsü, Kyasanur orman hastalığı virüsü ve Colorado kene ateşi virüsü'dür.

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA)

Hastalığın etkeni Bünyaviridae ailesine bağlı Nairovirus soyuna mensup bir RNA virüsüdür ve *Hy. marginatum*, *Amblyomma variegatum*, *Haemaphysalis punctata*, *Hy. anatolicum*, *Hy. truncatum*, *R. bursa* türü keneler tarafından taşındığı bildirilmiş olmakla birlikte (Whitehouse, 2004) hastalık için esas vektör'ün *Hy. marginatum* olduğu bilinmektedir (Tonbak ve ark., 2006). Kene ile taşınan virüsler arasında en yaygın coğrafi dağılıma sahip kanamalı ateşi virusudur. Hastalık kene tutunması ve enfekte insan veya hayvanların kan ve vücut sıvılarına temas sonucunda bulaşır. KKKA virüsünün yayılmasında evcil ve yabani hayvanların etkili olduğu belirtilmektedir (Vatansever ve ark., 2007). Ani başlayan şiddetli baş ağrısı en erken

semptomdur. Ateş ve titremeler görülür ve yaklaşık 7-9 gün sürebilir. Kas ağrısı; özellikle sırtın alt kesimi ve bacaklarda görülür. Boğaz ağrısı ve fotofobi görülebilir. Mortalitesi %3-30 arasında değişebilir. Tedavide ribavirin tavsiye edilen antiviral ajandır. Sıvı-elektolit dengesine dikkat edilmelidir. Ateş ve kanama takipleri yapılmalıdır (Elaldı, 2004; Ergönül, 2016).

Kene Kaynaklı Ensefalitis (TBE)

Etken Flaviviridae ailesine mensup bir RNA virüsüdür ve *I. ricinus* ve *I. persulcatus* türü kenelerle nakledilir (Aktaş ve Aydın, 2017). Hastalık etkeni kenelerle temas ve nadiren pastörize edilmemiş süt tüketimiyle bulaşır. Kuzey Asya'dan, Batı ve Orta Avrupa'ya kadar pek çok bölgede görüldüğü rapor edilmiştir (Başbulut ve ark., 2012). Hastalığın başlangıcında ateş, bulantı ve kusma ile birlikte baş, eklem ve sırt ağrıları görülürken sonraki dönemlerde ise; ataksi, konsantrasyon ve hafıza kaybı gibi nörolojik bulgular izlenir. Hastalık özellikle santral sinir sistemini tutabilmekte ve meningoensefalit tablosuyla seyredilmektedir. Laboratuvar tanısı BOS ve serumda IgM antikörlerinin saptanması ile yapılır (Öktem, 2009). Hastalığın aşısı olmakla birlikte özgün bir tedavisi bulunmamaktadır (Aktaş ve Aydın, 2017).

Powassan Ensefalitis

Hastalık etkeninin nörotropik özellikte pozitif polariteli ve Flavivirus cinsine ait bir RNA virüsü olduğu (Aktaş ve Aydın, 2017) ve *Ixodes spp.* ve *D. andersoni* türü kenelerle nakledildiği rapor edilmiştir. Hastalık ilk olarak 1958 de Kanada'da tespit edilmiştir. Günümüzde Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Rusya da görülebilmektedir. Virüsün esas konakları fareler olup aynı zamanda dağ sıçanları, sincaplar ve geyiklerde de bulunabildiği bildirilmiştir (Pesko ve ark., 2010). Hastalığın %10 'un üzerinde ölüm hızı ile ciddi nöroinvaziteye neden olabileceği bildirilmektedir (Hernancea ve Thangamani, 2015). Serum ve (BOS) beyin-omurilik sıvısında ELISA ile özgün antikörlerin aranması ile tanı konabilmektedir. Korunmada kene kovucu maddeler kullanmak, ormanlık alanlarda uzun ve kapalı giyinmeye dikkat etmek faydalı olacaktır. Özgün bir tedavisi ve aşısı bulunmamaktadır.

Kyasanur Orman Hastalığı

Hastalığın etkeni Flaviviridae ailesine mensup bir virüsdür ve *Hae. spinigera* türü keneler ile bulaşmaktadır. Hindistan'ın batı ve orta bölgelerini kapsayan alanda görülmektedir. Hastalık 3-8 gün içinde ortaya çıkan titreme, ateş ve baş ağrısı gibi belirtiler ile başlamakta ve ilk belirtilerin görülmesinden 3-4 gün sonra kusma, gastrointestinal belirtiler ve kanama sorunları ile seyreden şiddetli kas ağrıları görülebilmektedir. Hastalığın mortalitesi %3-10 arasındadır. Semptomlara yönelik olarak destek ve hastane tedavisi gerekir. Endemik bölgelerde yaşayan risk grubunda olanlar için bir aşısı vardır. Ciddi geç kalınmış vakalar ölümle sonuçlanabilmektedir (Shah ve ark., 2018).

Colorado Kene Ateşi

Etken Reoviridae ailesinde Colti virüs cinsinin bir türüdür ve ağaç kenesi olarak da adlandırılan *D. andersoni* tarafından nakledilir. Hastalık kuzeybatı Amerika'da (Kolorado, Kaliforniya ve Kayalık Dağlar bölgesinde) özellikle ilkbahar aylarında görülmektedir. Klinik olarak ateş, titreme, baş ağrısı, göz arkasında ağrı, fotofobi, kas ağrısı, halsizlik, bulantı-kusma, karın ağrısı ve hepatosplenomegali görülebilir (Naphthine ve ark., 2012). En önemli özelliği; meningitis, döküntü ve bifazik ateştir. Hastalığın özgün bir tedavisi ve aşısı olmamakla birlikte destek tedavisi uygulanmaktadır (Aktaş ve Aydın, 2017).

Protozoal Hastalıklar

Babesiosis

Hastalığın etkeni *Babesia microti*, *B. divergens* ve *B. venatorum* (*Babesia* sp. EU1)'dur (Rozej-Bielicka ve ark., 2015) ve *Ixodes* spp., *Dermacentor* spp. ve *Rhipicephalus* spp., cinsindeki kenelerce nakledildiği bilinmektedir (Aydın ve ark., 2015; Dumanlı ve ark., 2016). Babesiosis tropik ve subtropik iklim kuşağında yaygın olarak görülebilen bir hastalıktır. Konjenital veya edinilmiş immün yetmezlikli kişiler ile yaşlı bireylerde ağır seyredebilir. Babesiosisin epidemiyolojik durumu dünya çapında değişkenlik göstermektedir. Avrupa'da, vaka sayısında herhangi bir artış bildirilmemiştir, ancak ABD'de hastalığın prevalansında bir artış olduğu görülmektedir (Kjemtrup ve Conrad, 2000; Rozej-Bielicka ve ark., 2015). Bağışıklık sistemi normal kişilerde enfeksiyon

genellikle asemptomatik veya hafif seyrederken bağışık yetmezliği olan kişilerde ve ağır vakalarda; ateş, terleme, kas ve baş ağrısı ile birlikte tipik hemolitik anemi tablosu görülür. Buna ilaveten böbrek ağrısı ve yetersizliği olabilir. Ölümlere neden olabilir. Tedavide Kinin+Klindamisin veya azitromosin kullanılır. Ciddi vakalarda exchange transfüzyon yapılabilir. Dünyanın çeşitli yerlerinde canlı aşısı kullanılmaktadır (Nuhoğlu ve ark., 2008).

Bakteriyel Hastalıklar

Lyme Hastalığı

Etken *Borrelia burgdorferi* adlı bir spirokettir ve *I. scapularis* türü kenelerle bulaşır (Inci ve Duzlu, 2009). Hastalık dünya genelinde kene ile taşınan yaygın hastalıklardan biridir (Şen, 2006). Hastalıkta eritema kronikum migrans adı verilen döküntü meydana gelir (Güneş ve ark., 2017). Döküntü ile beraber yorgunluk, kas, eklem ve baş ağrısı ile birlikte ateş ve üşüme görülebilir. Ayrıca; boyun sertliği, bölgesel adenopatiye de neden olabilir (Nuhoğlu ve ark., 2008). Hastalığın erken teşhis edildiği durumlarda oral antibiyotikler, geç teşhis edilmiş ve ciddi vakalarda parenteral antibiyotikler gerekir. Bu amaçla amoksisilin ve doksisisiklin tercih edilir. Rekombinant OspA (LYMERix) adında aşısı; keneye maruziyet açısından yüksek veya orta riskli kişilere önerilmiş, düşük riskli veya risksiz kişilere, 15 yaşından gençlere, 70 yaşını geçen yaşlılara ve hamilelere önerilmemiştir (Sanchez ve ark., 2016).

Tularemi

Küçük, gram negatif, hareketsiz bir kokobasil olan *Francisella tularensis* tarafından hastalık oluşturulur. Hastalığın vektörü keneler ve tabanidlerdir. Amerika'da *D. variabilis*, *D. andersoni* ve *A. americanum* türü kenelerin *Francisella* türlerinin insanlara naklinden sorumlu oldukları belirtilmektedir. Hastalık Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve İskandinav ülkelerinde sık görülür. İyi pişmemiş enfekte etler ve kontamine sular da bulaşmada rol alabilir. Enfeksiyon soğuk algınlığı şeklinde başlar ve üşüme, titreme, ateş, halsizlik, baş ağrısı, göğüs ve boğaz ağrısı, öksürük, bulantı ve diyare de görülmektedir (Hestvik ve ark., 2015). Tedavide streptomisin ve gentamisin kullanılır. Canlı aşısı mevcut olup koruyucu amaçlı laboratuvar

çalışanlarına ve tekrarlayan patojen hassasiyeti olanlara kullanılabilir (Nuhoğlu ve ark., 2008).

Riketsiyal Hastalıklar

Human Granulocytic Anaplasmosis (HGA)

Anaplasma phagocytophilum'un sebep olduğu enfeksiyondur. Etkene *I. ricinus*, *I. scapularis*, *I. pacificus*, *R. bursa*, *Hae. concinna* ve *Hae. punctata* türü keneler vektörlük yapabilmektedir (Aktaş ve ark., 2010; Gazyağcı ve Aydenizöz, 2010). Tropik ve subtropik ülkelerde özellikle anemi ile seyredir. Avrupa ve kuzey Amerika'da hastalık rapor edilmiştir. Yüksek ateş, anoreksi, letarji, anemi, hareketsizlik, bulantı ve kusma şeklinde belirtiler görülebilmektedir. Tedavide özellikle doksisisiklin ve rifampin (rifampisin) etkilidir.

Human Monocytic Ehrlichiosis (HME)

Etken *Ehrlichia chaffeensis*'dir ve yıldız kenesi, *A. americanum* tarafından nakledilir (Nuhoğlu ve ark., 2008). Beyaz kuyruklu geyik bu kenenin doğal rezervuarıdır ve Kuzey Amerika'da tespit edilmiştir. Hastalıkta ateş, baş ağrısı, kırgınlık ve kas ağrısı ile birlikte bulantı, kusma, ishal, öksürük, konfüzyon ve vücutta döküntüler görülebilir. Döküntü el ve ayaklar dışında tüm vücutta görülür, ısırma yeri ile ilişkili değildir ve maküler, papüler, peteşiyel şeklinde olabilir. Uzamış ateş, böbrek yetmezliği, dissemine intravasküler koagülasyon, nöbet ve koma da görülebilir. Tedavide doksisisiklin, kloramfenikol, rifampin kullanılabilir. Mortalite oranı %2-3 şeklindedir (Nuhoğlu ve ark., 2008).

Kayalık Dağları Benekli Ateşi

Rickettsia rickettsii'nin neden olduğu bir enfeksiyondur ve Amerikan köpek kenesi (*D. variabilis*) ile nakledilir. Kuzey, Orta ve Güney Amerika hastalık endemik görülmele birlikte %2 oranında Rocky dağları bölgesinde görülür. Ateş, bulantı, kusma, iştahsızlık, baş ve kas ağrıları görülür. Benekli döküntülerle (kaşıntısız, küçük, düz, pembe; üzerlerine basınç uygulandığında solan) karakterizedir. Tetrasiklin ve kloramfenikol, tedavide etkindir. Mortalite oranı %5-25 arasında seyretmektedir (Nuhoğlu ve ark., 2008).

Türkiye'de İnsanlarda Kene ile Bulaşan Hastalıkların Durumu

Türkiye; coğrafik, sosyoekonomik ve diğer bazı faktörlerin etkisiyle insanların kene ile temas olasılığının yüksek olduğu bir konumdur. Konu ile ilgili çalışmalardan insanlarda kene tutunma vakalarının önemli bir problem olduğu anlaşılmaktadır (Vatansever ve ark., 2008; Gargili ve ark., 2010; Bakirci ve ark., 2014; Aydın ve Kocaman, 2015; Aydın, 2015). Türkiye'de KKKA ilk olarak Tokat ilinde 2002 yılında tanımlanmış ve 2015 yılı Aralık ayına kadar toplam 9787 vaka görülmüştür. Bunlardan 469'unun (%4,79) ölümle sonuçlandığı rapor edilmiştir (Leblebicioğlu ve ark., 2016). Vektör hareketleri sıcak mevsimde artış gösterir. Bu yüzden özellikle ilkbahar ve yaz aylarında daha fazla vaka görülmektedir. Ülkemizde *Hy. marginatum* hastalığın yayılmasından sorumludur. İlk yıllarda hastalık yaygın olarak Tokat, Sivas, Çorum civarlarında görülürken son yapılan çalışmalarla birlikte hastalığın Karadeniz'den, Marmara bölgesine, Doğu Anadolu'dan, İç Anadolu ve Ege bölgesinde bazı illere kadar yayılım gösterdiği görülmektedir. Bu konuda ki en önemli neden; geniş konak ağına sahip vektör kenelerin tutundukları kuşlar yoluyla farklı yerlere göçleriyle olduğu düşünülmektedir.

Ülkemizde insanlarda Powassan ensefalitis, Kyasanur orman hastalığı, Kayalık dağları benekli ateşi, Kolorado kene ateşi, human granulocytic anaplasmosis (HGA) ve human monocytic ehrlichiosis (HME) hastalıklarının görüldüğüne dair bir rapor bulunmamaktadır. Kene kaynaklı ensefalitis ve Lyme hastalığının Türkiye'deki gerçek insidans ve prevalansı bilinmemektedir. Trakya ve İstanbul illerinden toplanan kenelerde *B. burgdorferi*, *B. afzelii* ve *B. garinii* izole edilmiş ve Avrupa'daki suşlarla %97 oranında benzerlik saptanmıştır. Özellikle Sinop ili ormanlık alanlarda en fazla *I. ricinus* türü kenelerin bulunduğu ve *B. burgdorferi*'nin varlığı tespit edilmiştir (Başbulut ve ark., 2012). Ülkemizde babesiosis; tespit edilmiş ilk vektör kaynaklı hastalıklardandır (Sayın ve ark., 1997; İnci ve ark., 2018). Özellikle İç Anadolu bölgesi ve çevresinde yapılan çalışmalarda *Babesia*, *Borrelia*, *Rickettsia* gibi patojenler saptanmıştır (Orkun ve ark., 2014). At, koyun, köpek ve insanlarda yapılan

çalışmalarda *Babesia* türleri tespit edilmiştir (İnci ve ark., 2018).

Türkiye’de tulareminin etkeni olan *F. tularensis* özellikle Marmara ve Karadeniz bölgesinde endemik olarak görülmektedir. Türkiye’de *F. tularensis*’in vektörleri üzerine yapılan moleküler tek çalışmada hiçbir kene ve sivrisinek türünde bakteri tespit edilememiştir. Türkiye’de hastalığın esas kaynağının su olduğu düşünülmektedir (Duzlu ve ark., 2016).

SONUÇ

Vektör kaynaklı hastalıkların çok dikkat edilmesi gereken hastalıklardan olduğu kaçınılmazdır. Hastalık etkenlerinin; viral, protozoal, bakteriyel ve riketsiyal olarak çok çeşitli olduğu görülmektedir. Ayrıca tüm bunlarla birlikte vektör çeşitliliği de göz ardı edilemeyecek kadar fazladır. Özellikle iklim değişiklikleri ve küresel ısınmaya bağlı olarak hastalık etkenlerinin farklılık gösterebildiği ve değişik coğrafi alanlara adapte olabildiği görülmektedir. Özellikle hastalıkların meydana gelmesinde konağın tür özelliği ve bağışıklık durumu önemlidir. Hastalık belirti ve bulguları incelendiğinde başlangıç evrelerindeki benzerlik, ayırt edilebilmesi noktasında tanıyı güçleştirmektedir. Her kene türü hastalık taşımayabilir, ancak birden fazla hastalığın görülmesine de sebep olabilir. Hastalıkların oluşmasında konağın direnç ve immun sistem özelliklerinin yanında çevresel faktörler de göz ardı edilmemelidir. Korunma yöntemleri değişen koşullara uyum sağlayacak şekilde iyileştirilmeli ve özellikle riskli bölgelerde yaşayan insanlara yönelik aşı uygulamaları ve profilaktik önlemler tercih edilmelidir.

Türkiye’de insanlarda kene ile bulaşan hastalıklar konusunda özellikle KKKA ile ilgili olarak çalışmalara ağırlık verildiği görülmekte, insanlarda ve vektör kenelerde kene ile bulaşan diğer hastalık etkenlerinin gerçek durumu bilinmemektedir. Bu nedenle ülke genelinde bu hastalıkların epidemiyolojileri ve vektörleri hakkında tek sağlık bakış açısıyla detaylı çalışmaların yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Aktas, M., Vatansver, Z., Altay, K., Aydın, M.F., Dumanlı, N. (2010). Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* from Turkey. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 104(1), 10-5.

- Aktas, M., Vatansver, Z. (2014). Biology of Ixodid Ticks and Tick Species in Turkey. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics*, 7(2), 1-8.
- Aktaş, O., Aydın, H. (2017). Güncel Literatür Işığında Kene Kaynaklı Viral Patojenlere Genel Bir Bakış. *Türk Mikrobiyal Cem Derg*, 47(4), 151-9.
- Aydın, M.F., Aktas, M., Dumanlı, N. (2012). Tick Infestations on Sheep and Goats in the Black Sea Region of Türkiye. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18(Suppl-A), 17-22.
- Aydın, M.F. (2015). A Preliminary Study for Determining Tick Species Attached Humans in Bitlis Province of Turkey. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 29(1), 19-21.
- Aydın, M.F., Kocaman, H. (2015). Evaluation of tick bites according to anatomical regions on humans in the light of the studies in Turkey. *Balikesir Saglik Bil Derg*, 4(2), 122-4.
- Aydın, M.F., Aktas, M., Dumanlı, N. (2015). Molecular identification of *Theileria* and *Babesia* in ticks collected from sheep and goats in the Black Sea region of Turkey. *Parasitol Res*, 114(1), 65-9.
- Aydın, M.F., Dumanlı, N. (2017). Knowledge Levels Regarding Ticks and Crimean-Congo Haemorrhagic Fever Among Veterinarians, Nurses and Nursing Students. *Van Vet J*, 28(1), 31-5.
- Bakirci, S., Aysul, N., Eren, H., Unlu, A.H., Karagenc, T. (2014). Diversity of ticks biting humans in Aydın province of Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 61:93-8.
- Başbulut, A., Gözala, E., Sönmez, A., ve ark. (2012). Samsun Kırsalında *Borrelia burgdorferi* ve Kene Ensefaliti Virüsü Seroprevalansının Araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 46(2), 247-56.
- Dantas-Torres, F., Chomel, B.B., Otranto, D. (2012). Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends Parasitol*, 28(10), 437-46.
- Dumanlı, N., Altay, K., Aydın, M.F. (2012). Tick Species of Cattle, Sheep and Goats in Turkey. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 3(2), 67-72.
- Dumanlı, N., Altay, K., Aktaş, M. (2016). Keneler ve kenelerle taşınan hastalıklar. *Manas J Agr Vet Life Sci*, 6(2), 45-54.
- Duzlu, O., Yıldırım, A., İnci, A., et al. (2016). Molecular investigation of francisella-like endosymbiont in ticks and *Francisella tularensis* in ixodid ticks and mosquitoes in Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 16(1), 26-32.
- Elaldı, N. (2004). Kırım-Kongo Hemorajik Ateş Epidemiyolojisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(4), 185-90.
- Ergönül, Ö. (2016). Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Tedavisi ve Ribavirin Kullanımı. *Klinik Dergisi*, 29(1), 2-9.

- Estrada-Peña, A., de la Fuente, J. (2014).** The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral Res*, 108, 104-28.
- Gargılı, A. (2009).** Kenelerin Vektörlüğü ve Türkiye’de Durum. *ANKEM Derg*; 23(Ek2), 249-52.
- Gargili, A., Kar, S., Yılmaz, N., et al. (2010).** Evaluation of ticks biting humans in Thrace Province, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(A), 141-6.
- Gazyacı, A.N., Aydenizöz, M. (2010).** Keneler ve Kenelerin Taşıdığı Bazı Önemli Hastalıklar. *Türkiye Parazitolojisi Derg*, 34(2), 131-6.
- Güneş, R., Kılıç, S., Yorulmaz, A., Artüz, F., Kayaçetin, S. (2017).** Eritema kronikum migrans: Avrupa kökenli iki olgu. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 10(3), 270-2.
- Hermance, M.E., Thangamani, S. (2015).** Tick saliva enhances Powassan virus transmission to the host, influencing its dissemination and the course of disease. *J Virol*, 89(15), 7852-60.
- Hestvik, G., Warns-Petit, E., Smith, L.A., et al. (2015).** The status of tularemia in Europe in a one-health context: a review. *Epidemiol Infect*, 143(10), 2137-60.
- İnci, A., Düzlü, Ö. (2009).** Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 53-63.
- İnci, A., Yıldırım, A., Duzlu, O., Doganay, M., Aksoy, S. (2016a).** Tick-Borne Diseases in Turkey: A Review Based on One Health Perspective. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(12):e0005021. doi:10.1371/journal.pntd.0005021
- İnci, A., Yıldırım, A., Düzlü, O. (2016b).** The Current Status of Ticks in Turkey: A 100-Year Period Review from 1916 to 2016. *Turkiye Parazitolojisi Derg*, 40, 152-7.
- İnci, A., Doğanay, M., Özdarendeli, A., Düzlü, Ö., Yıldırım, A. (2018).** Overview of Zoonotic Diseases in Turkey: The One Health Concept and Future Threats. *Turkiye Parazitolojisi Derg*, 42, 39-80.
- Kjemtrup, A.M., Conrad, P.A. (2000).** Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. *Int J Parasitol*, 30, 1323-37.
- Leblebicioglu, H., Ozaras, R., Irmak, H., Sencan, I. (2016).** Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. *Antiviral Res*, 126, 21-34.
- Naphtine, S., Yek, C., Powell, L., Brown, K., Brierley, I. (2012).** Characterization of the stop codon read through signal of Colorado tick fever virus segment 9 RNA. *RNA*, 18(2), 241-52.
- Nuhoğlu, İ., Aydın, M., Türedi, S., Gündüz, A., Topbaş, M. (2008).** Kene İle Bulaşan Hastalıklar. *TAF Prev Med Bull*, 7(5), 461-8.
- Öktem, M.A. (2009).** Hanta virus ve Kene ile Bulaşan Ensefalit Virüsü İnfeksiyonları *ANKEM Derg*, 23(Ek 2), 245-8.
- Orkun, O., Karaer, Z., Cakmak, A., Nalbantoglu, S. (2014).** Identification of Tick-Borne Pathogens in Ticks Feeding on Humans in Turkey. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(8): e3067.
- Pesko, N., Torres-Perez, F., Hjelle, L., Ebel, D. (2010).** Molecular epidemiology of Powassan virus in North America. *J Gen Virol*, 91(11), 2698-705.
- Rozej-Bielicka, W., Stypulkowska-Misiurewicz, H., Gołab, E. (2015).** Human babesiosis. *Przegl Epidemiol*, 69, 489-94.
- Sanchez, E., Vannier, E., Wormser, G.P., Hu, L.T. (2016).** Diagnosis, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: a review. *Jama*, 315(16), 1767-77.
- Sayin, F., Dincer, S., Cakmak, A., et al. (1997).** Tick-borne diseases in Turkey. *Trop Anim Hlth Prod*, 29:535.
- Sen, E. (2006).** Lyme hastalığının epidemiyolojisi *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 36(1), 55-66.
- Shah, S.Z., Jabbar, B., Ahmed, N., et al. (2018).** Epidemiology, Pathogenesis, and Control of a Tick-Borne Disease- Kyasanur Forest Disease: Current Status and Future Directions. *Front Cell Infect Microbiol*, 8, 149.
- Tonbak, S., Aktas, M., Altay, K., et al. (2006).** Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: genetic analysis and tick survey in Turkey. *J Clin Microbiol*, 44(11), 4120-4.
- Vatansver, Z., Uzun, R., Estrada-Pena, A., Ergonul, O. (2007).** Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. In: Ergonul O, Whitehouse CA (ed’s), Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective. Dordrecht, Netherlands, Springer, 59-74.
- Vatansver, Z. (2008)** Vektör kenelerin ekolojisi, II. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu (Kene Kaynaklı Enfeksiyonlar), Ankara, 27-36.
- Vatansver, Z., Gargili, A., Aysul, N.S., Sengoz, G., Estrada-Peña, A. (2008).** Ticks biting humans in the urban area of Istanbul. *Parasitol Res*, 102, 551-3.
- Whitehouse, C.A. (2004).** Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res*, 64(3), 145-60

Ruminantların beslenmesinde inaktif maya metabolitleri Inactive yeast metabolites in ruminant nutrition

Özet

Rumen fermentasyonunun kontrolü ve rumen içi koşulların sürdürülebilirliği, ruminantların sağlığı ve bunlardan elde edilecek hayvansal ürünün niteliği bakımından oldukça önemlidir. İnaktif maya metaboliti kullanımıyla, rumen mikroorganizma sayı ve aktivitelerinde modifikasyon yapabilme, yemlerin besleme değerini artırma ve fermentasyon etkinliğini iyileştirmek suretiyle rumende manipülasyon amaçlanmaktadır. Rumen fermentasyonunun olumsuz etkilerini önlemek ve verimi arttırmak amacıyla kullanılan inaktif maya metabolitleri, besin değeri yüksek prebiyotik etkili biyoteknolojik ürünlerdir. Antibiyotiklerin yerine güvenle kullanılabilmelerinin yanı sıra, diğer maya türlerine kıyasla rumende daha uzun süre etkili olabilmeleri ve yem işleme tekniklerinden olumsuz etkilenmemeleri gibi ekstra avantajlara da sahiptirler. Doğal ve ekonomik olmaları yanında son yıllarda düşük kaliteli kaba yemlerle kullanıldığında pozitif etkileri ile de dikkat çekmektedirler. Bu çalışmada; inaktif maya metabolitleri, canlı mayalarla karşılaştırılmaları ve ruminant beslemede kullanımları ile ilgili araştırmalar irdelenmiş, yem tüketimi, selüloz sindirilebilirliği, anaerobik ve selüloolitik bakteri sayısı, rumen pH'sı ve uçucu yağ asitleri kompozisyonunun olumlu yönde değişebileceği, rumen sıvısı oksijen konsantrasyonu ile laktat birikiminin azaltılabileceği ve amonyak azotunun mikrobiyal proteine daha etkili dönüşebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: İnaktif maya, prebiyotik, rumen fermentasyonu, sindirilebilirlik

Abstract

The control of rumen fermentation and the sustainability of rumen-in conditions is very important in terms of the health of ruminants and the nature of the animal product. It is aimed to manipulate rumen microorganism numbers and activities, increase feed value of feed and improve fermentation efficiency by using inactive yeast metabolite. Inactive yeast metabolites used to prevent adverse effects of rumen fermentation and increase yield are biotechnological products with high nutritional value. In addition to being used safely in place of antibiotics, they have additional advantages such as being more effective in rumen than other yeast species and not being adversely affected by feed processing techniques. In addition to being natural and economical, they are important for their positive effects when used with low quality roughage in recent years. In this study; inactive yeast metabolites comparison with live yeasts and researches on their use in ruminant feeding, feed consumption, cellulose digestibility, the number of anaerobic and cellulolytic bacteria, rumen pH and volatile fatty acids composition can be changed in a positive way with the concentration of oxygen concentration of rumen liquid and lactate accumulation can be reduced. It was concluded that ammonia nitrogen could be more effective for microbial protein.

Key words: Inactive yeast, prebiotic, rumen fermentation, digestibility

GİRİŞ

Ruminantlarda hayvan sağlığı göz ardı edilmeden gelişimi hızlandırma ve verimi arttırmada mikrobiyel sindirimin desteklenmesi oldukça önemlidir. Rumen fermentasyon etkinliğini geliştirme ve iyileştirme, ruminant rasyonlarının manipülasyonu ile dolaylı olarak sağlanabilir (McIntosh ve ark. 2003, Wanapat ve ark. 2008).

How to cite this article

Budak, D., Yılmaz, A. (2019). Ruminantların beslenmesinde inaktif maya metabolitleri. *J Adv VetBio Sci Tech.* 4(1): 33-39. DOI: <http://doi.org/10.31797/vetbio.494058>

Review

**Duygu Budak¹
Aydan Yılmaz²**

¹ Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Aksaray Türkiye
[ORCID 0000-0001-9327-3830](https://orcid.org/0000-0001-9327-3830)

² Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı, Ankara Türkiye
[ORCID 000-0002-3091-2954](https://orcid.org/000-0002-3091-2954)

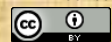
Correspondence

Dr. Öğr. Üyesi Duygu Budak
Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Adana Yolu Üzeri E-90 Karayolu 7. Km, 68100, Aksaray/TÜRKİYE
budakduygu@gmail.com
0 (382) 288 2862

Article info

Submission: 09-12-2018
Accepted: 08-04-2019
Online published: 21-04-2019

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



e-ISSN: 2548-1150
website: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>
doi prefix: [10.31797/vetbio](https://doi.org/10.31797/vetbio).

Mikrobiyel gelişimin sağlanması, patojenik mikroorganizmaların kontrol altına alınması, rumen fermentasyonunda meydana gelebilecek olumsuzlukların önlenmesi, hayvanın kötü koşullara adaptasyonunun iyileştirilmesi, hastalıklara karşı dirençlerinin ve genetik potansiyellerinin artırılması amacıyla çeşitli yem katkı maddeleri kullanılmakla birlikte, rumen sindirimini, verimi ve performansı olumlu yönde değiştirerek hayvansal ürünlerin miktar ve kalitesini yükseltmek amacıyla hayvanın cinsi, yaşı ve yetiştirilme amacına uygun olan yem katkı maddelerinin seçimi ve kullanımları da gün geçtikçe artmaktadır (McIntosh ve ark. 2003). Bunlardan birisi de prebiyotik etkili biyoteknolojik ürünler kapsamında yer alan inaktif maya metabolitleridir. Önceleri sindirim düzenleyici antimikrobiyal özellikleri nedeniyle antibiyotiklere alternatif olabileceği düşüncesiyle yola çıkmış, son yıllarda ise rumen fermentasyonunun kontrolünde kullanılmaları sıkça tartışılır olmuştur. İnaktif maya metabolitleri, maya hücrelerinin fermentasyonu sırasında üretmiş olduğu çoğunluğu mikrobiyal kaynaklı protein olan metabolitleri ve metabolik yan ürünlerini içermektedirler (Di Francia ve ark. 2008, Wallace 2013). Bu çalışma ile inaktif maya metabolitleri, bunların canlı mayalarla karşılaştırılmaları ve ruminant beslemede kullanımları ile ilgili araştırmalar irdelenerek ruminant beslemecilere katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

İnaktif maya metabolitleri

Maya hücresinin kuru maddesi %40-60 ham protein, %25-35 karbonhidrat, %7-15 yağ, %5-11 inorganik madde içermektedir. Fosfor, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve sülfat inorganik maddeler içinde miktarca en fazla olanlarıdır (Inge ve ark. 2009). İyi bir vitamin kaynağı olan maya hücresi B12 vitamini dışında diğer B kompleksi vitaminlerini de fazla miktarda bünyesinde bulundurmaktadır (Anupama 2000, Nursoy ve Baytok 2003). Mayanın karbonhidrat bulunan ortamlarda çoğaltılması ile maya kültürü elde edilir. Mayalar canlı veya ölü olabilirler. Canlı mayalar genellikle fermentasyonu teşvik etmekte olup, esas itibarıyla alkol fermentasyonu süresince çoğalan belirli mikroorganizmalardan (hemen hemen yalnızca *Saccharomyces* cinsi) teşekkül ederler (Anonim 2014a,b,c). Uygulanan işlemlere bağlı olarak, maya hücreleri tamamen öldürüldüğünde "inaktif maya

metabolitleri" adını alırlar. İnaktif maya metabolitleri; maya hücresinin hücre içi besinlerinin yanı sıra, fermentasyon sırasında mayalar tarafından üretilen metabolit ve yan ürünler içeren kompleks fermente ürünlerdir. Sindirim kanalında istenilen bakteriyel büyümeyi stimüle edecek ve fermentasyon faktörlerini sağlayacak bir besleme desteği olarak kullanılırlar (Anonim 2014a,b).

Farklı inaktif maya ürünlerini birbirleri ile kıyaslamadaki en önemli ölçüt protein içerikleridir. İnaktif maya metabolitinde protein %20-50 arasında değişebilir (Anonim 2014b). Besin amaçlı olarak mikroorganizmalardan elde edilen bu proteinlere tüm proteinlerin tek hücreden kaynaklanmaları nedeniyle "*Tek Hücre Proteini*" (Single Cell Protein) ya da "*mikrobiyal biomass*" ismi verilmiştir (Katırcıoğlu ve Aksöz 2003). Dünyada bol olarak bulunan çok çeşitli endüstri atıkları ve "artık" maddeler tek hücreli canlıların üretilmesi için kullanılabilirler. Böylece çevre sorununun çözülmesine de yardımcı olmaktadır (Katırcıoğlu ve Aksöz 2003, Öztürk 2008, Küçükyılmaz ve ark. 2012).

Diğer taraftan küresel ısınma ile birlikte ekolojik değişime bağlı olarak çayır ve meraların karakteristikleri değişmekte (Kutlu ve Serbester 2014) ve yem bitkileri üretimi gittikçe düşmektedir. Böylece, düşük kaliteli yem bitkilerinin bile maliyeti yükselmekte ve dolayısıyla hayvansal ürün fiyatlarına olumsuz yansımaktadır. Maya metaboliti gibi besin değeri yüksek, doğal ve düşük maliyetli yem katkılarının ruminant rasyonlarında kullanımı, verim ve sağlığı olumlu etkilerken, yem maliyetinin kontrolünde de kolaylık sağlamaktadır (Anonim 2014a,b).

İnaktif ve canlı mayaların karşılaştırılması

Canlı maya kültürleri ile rumen mikroorganizmaları sayıca artarken rumen fonksiyonları da artmaktadır. Hayvansal üretimde canlı maya kültürlerinin etkileri süt ve et üretimi üzerinde de ağırlık kazanmıştır (İnal ve ark. 2010, Yalçın ve ark. 2011). Araştırmalara sıkça konu olan canlı maya hücrelerinin, oksijenin bulunmadığı ortamda çoğalamadıkları ve rumen ortamının bunların yaşamlarını sürdürebilmeleri için uygun bir ortam olmadığı, bu nedenle canlı mayaların rumende çoğalıp yeterli miktarda metabolit (mineral, vitamin, enzim) üretmedikleri, metabolit üretiminin tam anlamıyla

gerçekleşebilmesi için 15 saatlik bir süreye ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Katırcıoğlu ve Aksöz 2003). Oysa işkembede geçen 3-5 saatlik bir süre bu açıdan yeterli gelmemektedir. Bu süre içerisinde bir canlı maya çok az metaboliti rumen içerisine bırakabilmektedir. Bu nedenle, inaktif maya metabolitinin rumende daha uzun süre kalabileceği ve buna bağlı olarak daha etkin kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Probiyotiklerin canlı mikroorganizmalardan oluşması ve bunların bu şekilde karma yem endüstrisinde kullanılması uygulanan yüksek sıcaklık uygulamaları, peletleme gibi yem işleme tekniklerinden olumsuz etkilenmelerine neden olmaktadır (Küçükylmaz ve ark. 2012, Anonim 2014a,b). İnaktif maya metabolitleri bu olumsuzluğu ortadan kaldırmalarının yanı sıra fermentasyon ürünlerini de barındırdığından özellikle yüksek miktarda mikrobiyal ham proteine sahip oluşuyla da büyük önem taşımaktadırlar (Sarıpınar ve Sulu 2005). Ayrıca tüm esansiyel aminoasitleri içerdiğinden biyolojik değeri yüksek bir mikrobiyal protein kaynağı olup, inaktif mayada bu oran daha fazladır. Bu nedenle organizmada daha kolay değerlendirilmekte ve absorbe edilmektedirler (Katırcıoğlu ve Aksöz 2003).

İnaktif mayalar, ucuz üretilebilmeleri, kolay ve hızlı çoğalabilmeleri, üretilebilmeleri için geniş arazi gerekmemesi ve çevre ile iklim koşullarından etkilenmemesi gibi sahip oldukları önemli avantajları nedeniyle ruminant rasyonları için etkin ve ekonomik yem katkı maddeleri arasında yer alabilirler. Diğer taraftan, inaktif maya metaboliti gibi besin değeri yüksek, düşük maliyetli, doğal ve biyoteknolojik yem katkılarının kullanımı ile ruminant hayvanların verim ve sağlıkları olumlu yönde etkilenerek yem maliyetinin kontrolünde de kolaylık sağlanabilir. Ayrıca çiftlik hayvanlarının kötü koşullara adaptasyonunu iyileştirme, hastalıklara karşı dirençlerini ve genetik potansiyellerini arttırmak suretiyle de önemli katkılar sağlanması söz konusu olabilir. İnaktif maya metaboliti ile rumen gelişimi kontrol altına alındığında, yemden yararlanma da iyileşeceğinden et maliyetinin düşmesi ve daha yüksek kazanç sağlanabileceği düşünülmektedir. *Saccharomyces Cerevisiae* fungal takviyesi, antibiyotikler için potansiyel alternatiflerden biridir. Yararlı etkileri, süt üretimini artırması ve ruminantların

performansını geliştirmesi ile ilişkilidir (Abd El-Ghani 2004, Moharrery ve Asadi 2009, Niyas ve ark. 2015).

Maya kültürlerinin rumende mikroflora gelişimi sayesinde selüloolitik bakteri popülasyonu artışında etkili olduğu ve yüksek selüloz içeriğine sahip düşük kaliteli kaba yemlerin canlı maya (Aydın ve ark. 2003, Chaucheyras ve ark. 2008, Tripathi ve Karim 2011, Ding ve ark. 2014, Hasani ve ark. 2012, Patra 2012) ve inaktif maya (Elseed ve Abusamra 2007, Tang ve ark. 2008) ile sindirimlerinin arttığı ve canlı mayanın rumen amonyak konsantrasyonunu azalttığı (Denev ve ark. 2007, Patra 2012) bildirilmektedir. Rumen bakteri yoğunluğunun artışı, anaerobik rumen ortamının sağlanmasıyla ilişkilidir (Kowalik ve ark. 2015). *Saccharomyces Cerevisiae* türlerinin rumen sıvısındaki oksijeni kullanma ve rumen bakteri popülasyonunu artırma becerisi bulunmaktadır (Newbold ve ark. 1996). Ayrıca rasyonlara canlı maya kültürü ilavesi ile rumende bakteri yoğunluğu ve ince bağırsağa geçen mikrobiyal azot miktarının arttığı ve böylece amonyak azotunun mikrobiyal proteine daha etkili dönüşebildiği vurgulanmaktadır (Denev ve ark. 2007, Patra 2012, Sawsan ve ark. 2012). Yine, ruminant rasyonlarına canlı maya ve inaktif maya ilavesi ile yem tüketimi ve günlük canlı ağırlık artışının (Abd El-Ghani 2004, Hassan ve Saeed 2013), organik madde, kuru madde, NDF ve ADF sindirilebilirliklerinin (Ando ve ark. 2004, Haddad ve Goussous 2005, Hassan ve Saeed 2013) arttığı da araştırmalarda belirtilmektedir. Bazı araştırma sonuçları ise, canlı mayanın rumen pH'sı ve uçucu yağ asitleri konsantrasyonlarını (Sawsan ve ark. 2012) olumlu yönde değiştirdiği, anaerobik ve selüloolitik bakteri sayısını artırarak kaba yemlerden daha iyi yararlanım (Tang ve ark. 2008, Tripathi ve Karim 2011, Zain ve ark. 2011) sağladığı yönündedir. Canlı ve inaktif maya metabolitlerinin rumende laktat oranını artırdığı ve böylece rumen fermantasyonunun olumlu etkilendiği de vurgulanmaktadır (Grochowska ve ark. 2012). Ülkemizde de yapılmış araştırmalar daha çok canlı maya kültürleri üzerine olup, bunlar halen ruminant beslemede kullanılmaktadırlar (Aydın ve ark. 2003, Karademir ve Karademir 2003, Sarıpınar ve Sulu 2005, Burçak ve Yalçın 2013). Bununla birlikte, prebiyotik özelliklere sahip olan inaktif mayaların pek çok farklı avantajlara sahip oldukları da görülmektedir.

İnaktif mayaların ruminant beslemedeki önemi

Ruminantlarda rumen fermentasyonunun kontrolü ve rumen içi koşulların sürdürülebilirliği üzerinde en çok durulan araştırma konularından birisidir. Mikrobiyal sindirimin gerçekleştiği rumen ortamının devamlılığı bakımından rumen içi koşulların optimize edilmesi için rumen pH'sının kontrolü büyük önem arz etmektedir. Entansif beside hayvanlar fazla miktarda kesif yemle beslendiklerinden rumen içi koşullar (özellikle pH) bakımından risk altındadırlar. Mayalar aerobik patojenlerin ortaya çıkardığı oksijeni tüketerek rumendeki anaerobik ortamın sürdürülmesini sağlayarak rumende anaerobik bakteri sayısını arttırmakta ve rumen pH'sının korunmasına katkıda bulunmaktadırlar (Sarıpınar ve Sulu 2005, Sawsan ve ark. 2012). Ayrıca, rumen pH'sını artırdıklarından rumende patolojik düzeyde asit birikimiyle karakterize olan asidozisin önlenmesinde de faydalı olabilecekleri düşünülmektedir.

Rumen fermentasyonunun modifiye edilmesiyle ortaya çıkan pozitif etkiler, kullanılan rasyon kompozisyonuyla yakından ilişkilidir. Ruminant rasyonlarının %15-70'i ham selüloz ve hemiselülozdan oluşmaktadır. Bu bitki hücre duvarı polimerleri çözünmeyen kompleks yapılar olup, parçalanması oldukça zordur. Konakçı tarafından da salgılanan sindirim enzimleri tarafından sindirilemeyen polimerler, rumende bulunan mikroorganizmalar sayesinde sindirilebilmektedir. Maya metabolitlerinin, *Fibrobacter succinogene*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyvirio fibrisolvens* gibi bakterilerin aktiviteğini arttırdığı (Newbold ve ark. 1996), maya ile rumende *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyvirio fibrisolvens* gibi selüloolitik bakterilerin ortama daha hızlı yerleştiği bildirilmiştir (Chaucheyras ve Fonty 2001). Rumende selüloolitik bakterilerin oranı, hayvanın selüloz içeriği yüksek kaba yemleri tüketme oranına bağlı olarak artmaktadır. Sindirimi güç olan hücre duvarı unsurlarını parçalayabilecek selüloolitik bakteri oranının rumen ortamında yeterli miktarda bulunması, kaba yemlerden yararlanım açısından oldukça önemlidir. İnaktif mayaların, selüloolitik rumen mikroorganizmalarının sayı ve aktiviteğini artırarak özellikle rasyondaki lifli maddelerin sindirimine katkıda bulunmasıyla birlikte laktik asit birikimini önlediği ve

rumende oksijen yararlanımını teşvik ederek oksijen konsantrasyonunun azalmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir (Grochowska ve ark. 2012).

İnaktif maya metabolitlerinin içerdiği protein, biyolojik değeri yüksek bir protein olup, etkisi rasyonun kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Ruminant rasyonlarında maya kullanılması durumunda yem tüketimi, selüloz sindirilebilirliği, anaerobik ve selüloolitik bakteri sayısı ile ruminal pH iyileştirilebilmektedir. Aynı zamanda, uçucu yağ asitleri kompozisyonunu değiştirebilmekte, rumen sıvısındaki oksijen konsantrasyonunu ve laktat birikimini azaltabilmekte ve nişasta yararlanımını iyileştirebilmektedir (Arcos-Garcia ve ark. 2000, Dolezal ve ark. 2005, Ghoneem ve Mahmoud 2014).

Rumende besinsel proteinlerin çoğu bakteriler ve protozoalar tarafından hızlı bir şekilde peptidlere, aminoasitlere ve amonyağa parçalanmaktadır. Eğer ortamda yeteri miktarda enerji varsa aminoasitler transaminasyona uğramakta veya direkt olarak mikrobiyel protein sentezi için kullanılmaktadırlar. Ancak ortamda yeteri miktarda enerji yoksa aminoasitler deaminasyona uğramakta ve karbon iskeletinde uçucu yağ asitlerine fermente olmaktadır (Bach ve ark. 2005). Amonyagin, rumen bakterileri için en büyük nitrojen kaynağı olduğu, maya metaboliti ilavesi ile yemlemeden 6 saat sonra amonyak azotunun %14 oranında arttığı ifade edilmektedir (Lee ve ark. 2000).

İnaktif maya metabolitinın ruminantlarda kullanımı

Son yıllarda ruminant rasyonlarına yem katkı maddesi olarak inaktif *Saccharomyces cerevisiae* maya ilavesinin etkilerini belirlemeye yönelik araştırmaların dikkati çektiği, küçük miktarlarda katılması öngörülen inaktif mayanın rumende mevcut bulunan anaerobik koşulları koruyarak rumen fermentasyonunu olumlu yönde etkilediği ve hayvan sağlığını koruyarak verimini arttırdığı yönünde bulguların ağırlık kazandığı belirtilmektedir (Oeztuerk 2009, Grochowska ve ark. 2012, Opsi ve ark. 2012, Vyas ve ark. 2014).

Kaba yem kaynağı olarak yonca kuru otu (100g/kg) ve buğday samanı (100g/kg) kullanılan kuzu besi rasyonlarında *Saccharomyces cerevisiae* inaktif maya ilavesinin, kuru madde, organik madde, ham protein, NDF ve ADF sindirilebilirliklerini arttırdığı ileri sürülmüştür (Haddad ve Goussous 2005). Benzer başka

bir araştırmada ise, inaktif maya metabolitinin yüksek kalitedeki kaba yemler içeren rasyonlarda kullanılmasının daha uygun olabileceği bildirilmiştir (Can ve ark. 2007). Rasyonlarda protein kaynağı olarak farklı seviyelerde kullanılan soya kspesti yerine inaktif maya metaboliti kullanılması sonucunda, kuru madde, organik madde, ham protein ve NDF sindirilebilirliklerinde gözlenen artışın, maya metabolitinin kullanım miktarı ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (Rufino ve ark. 2013).

Verim ve performans üzerindeki olumlu etkide yem tüketimi ve sindirilebilirliğin artmasının ana faktör olduğu, bunun da rasyonun kimyasal kompozisyonu ve rasyon formülasyonuna bağlı olabileceği (Pina ve ark. 2006, Gomes ve ark. 2014) ve ham besin madde sindirilebilirliklerinin rumende toplam uçucu yağ asitleri konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak arttığı da ifade edilmektedir (Ghoneem ve Mahmoud 2014). Diğer taraftan, %40:60 kaba:kesif yem oranına sahip rasyonlarla beslenen Saanen keçilerinde, ham protein kaynağı olarak soya kspesti yerine *Saccharomyces cerevisiae* inaktif maya metaboliti kullanımı ile kuru madde tüketimi ve besin maddeleri sindirilebilirliklerinin etkilenmediğini ve inaktif maya metabolitinin bu etkisinin sınırlı yemleme ile ilgili olduğunu savunan araştırmacılar (Lima ve ark. 2012, Campos ve ark. 2014, Kowalik ve ark. 2015) da mevcuttur. Ayrıca, kuru madde tüketimi ile günlük ortalama canlı ağırlık artışına bağlı olarak yemden yararlanmanın arttığını bildiren araştırmalar da bulunmaktadır (Rufino ve ark. 2013, Ghoneem ve Mahmoud 2014).

Jurkovich ve ark. (2014) tarafından rumen pH'sı, propiyonat, toplam uçucu yağ asitleri konsantrasyonu ve amonyak miktarlarındaki artışın, % 49:51 kaba:kesif yem oranına sahip rasyona inaktif maya ilavesiyle gerçekleştiği ve rumen manipülasyonunun sağlanması da katkının yanı sıra kaba:kesif yem oranının da önemli olduğu savunulmuştur.

SONUÇ

Ruminantlarda yemden yararlanmayı ve besin madde sindirilebilirliğini arttırarak rumen fermentasyonunu düzenlemek ve performansı geliştirmek amacıyla ruminant rasyonlarında inaktif maya metabolitleri kullanılabilir. İnaktif mayaların rumendeki etki

mekanizması ve verime yansımalarına ilişkin yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmalarda dşuk kaliteli kaba yemlerde pozitif etkili olduğu bildirilmekle birlikte, hayvan besleme ve yem endüstrisinde inaktif maya metaboliti kullanımında hayvanın türü, mayanın mikrobiyal kaynağı, konsantrasyonu ve verilif şekli ile kaba yem kaynağından etkilenip etkilenmediğinin bilinmesi, beklenen verim artışının elde edilmesinde büyük bir önem taşımaktadır. Bu nedenle, inaktive edilmiş ancak metabolik olarak aktif olan maya metabolitinin ruminantlarda etkilerini belirlemeye yönelik araştırmalara gereksinim bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abd El-Ghani, A.A. (2004).** Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. *Small Rum. Res.* 52: 223-229.
- Ando, S., Khan, R.I., Takahasi, J., Gamo, Y., Morikawa, R., Nishiguchi, Y., Hayasaka, K. (2004).** Manipulation of rumen fermentation yeast: The effects of dried beer yeast on the in vitro degradability of forages and methane production. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 17(1), 68-72.
- Anonim, (2014a).** Retrieved from www.suthayvanciligi.com/urunlerimiz/diamond-v
- Anonim, (2014b).** Retrieved from www.tempe.com.tr
- Anonim, (2014c).** Dış ticaret mevzuatı (GTC İzahnamesi). Mayalar (canlı veya cansız); diğer tek hücreli cansız Mikroorganizmalar yenilen çeşitli gıda müstahzarları. Fasal 21.02.
- Anupama, P.R. (2000).** Single cell protein. *Biotech. Adv.* 18: 459-479.
- Arcos-Garcia, J.L., Castrejon, F.A., Mendoza, G.D., Perez Gavilan, E.P. 2000.** Effect of two commercial yeast cultures with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. *Livest Prod. Sci.* 63: 153-157.
- Aydın, C., Galip, N., Yaman, K. (2003).** Kaba ve konsantre yem ağırlıklı beslenen kıvrıcık erkek toklularda *Saccharomyces cerevisiae* canlı maya kültürünün rumen sıvısı metabolitleri ve protozoonlar üzerine etkisi. *Turk. J. Anim. Sci.* 27: 1453-1440.
- Bach, A., Calsamiglia, S., Stern, M.D. (2005).** Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88: 9-21.
- Burçak, E., Yalçın, S. (2013).** Buzağı beslemede probiyotiklerin kullanımı (Derleme). *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 53(2): 101-114.
- Campos, A.D., Pereira, O.G., Riberio, K.G., Santos, S.A., Filho, S.C.V. (2014).** Impact of replacing soybean meal in beef cattle diets with inactive dry yeast, a sugarcane by-

- product of ethanoldistilleries and sugar mills. *Anim. Feed Sci. Tech.* 190: 38–46.
- Can, A., Denek, N., Şeker, M., İpek, H. (2007).** Effect of yeast culture supplementation on nutrient digestibility and fattening performance of Awassi rams fed different levels of straw containing diets. *J. Appl. Anim. Res.* 31: 73-77.
- Chaucheyras, F., Fonty, G. (2001).** Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077. *Reprod. Nutr. Dev.* 41: 57-65.
- Chaucheyras-Durand, F., Walker, N.D., Bach, A. (2008).** Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: past, present and future. *Anim. Feed Sci. Tech.* 145(5): 20-26.
- Denev, S.A., Peeva, T., Radulova, P., Stancheva, N., Staykova, G., Beev, G., Todorova, P., Tchobanova, S. (2007).** Yeast cultures in ruminant nutrition. *Bulgarian J. Agri. Sci.* 13: 357-374.
- Di Francia, A., Masucci, F., De Rosa, G., Varricchio, M.L., Proto, V. (2008).** Effects of *Aspergillus oryzae* extract and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on intake, body weight gain and digestibility in buffalo calves. *Anim. Feed Sci. Tech.* 140: 67-77.
- Ding, G., Chang, Y., Zhao, L., Zhou, Z., Ren, L., Meng, Q. (2014).** Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on alfalfa nutrient degradation characteristics and rumen microbial populations of steers fed diets with different concentrate-to-forage ratios. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 5: 24-40.
- Dolezal, P., Dolezal, J., Trinacty, J. (2005).** The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation in dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.* 50: 503-510.
- Elseed, F., Abusamra, M.A. (2007).** Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) culture on NDF digestibility and rumen fermentation of forage sorghum hay in nubian goat's kids. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3(3):133-137.
- Ghoneem, W.M.A., Mahmoud, A.E.M. (2014).** Effect of inactivated and dried yeast on productive performance of Barki lambs. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* ©2014 Academic Journals Inc.
- Gomes, L.C., Alcalde, C.R., Lima, L.R., Lima, L.S., Souza, R., Possamai, A.P.S. (2014).** Nutritive value of diets containing inactive dry yeast for lactating Saanen goats. *R. Bras. Zootec.* 43(1):36-43.
- Grochowska, S., Nowak, W., Mikula, R., Kasproicz-Potocka, M. (2012).** The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation in sheep fed high- or low-NDF rations. *J. Anim. Feed Sci.* 21: 276–284.
- Haddad, S.G., Goussous, S.N. (2005).** Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 118: 343-348.
- Hassan, S., Saeed, A. (2013).** Effect of feeding different levels of dietary protein and addition of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on rumen fermentation characteristics of Awassi male lambs. *KSU J. Nat. Sci.* 16(2): 39-47.
- Hasani, A., Mehdizadeh, M., Hajjhasani, N., Fani, A.R. (2012).** Study on the possibility of nutritive value of wheat straw by baker's yeast (*Saccharomyces Cerevisiae* 1026). The 1th International and The 4th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture. 26-27 April 2012 in İsfahan. İran.
- İnal, F., Gürbüz, E., Coşkun, B., Alataş, M.S., Çitil, Ö.B., Polat, E.S., Şeker, E., Özcan, C. (2010).** The effects of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on rumen fermentation and nutrient degradability in yearling lambs. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 16 (5): 799-804.
- Inge, N.A., Bogaert, V., Maeseneire, L.D. (2009).** Extracellular polysaccharides produced by yeast and yeast-like fungi. *Yeast Biotechnology: Diversity App.* 651-671.
- Jurkovich, V., Brydl, E., Kutasi, J., Harnos, A., Kovacs, P., Könyves L., Muravölgyi, Febel, H. (2014).** The effects of *Saccharomyces cerevisiae* strains on the rumen fermentation in sheep fed with diets of different forage to concentrate ratios. *J. App. Anim. Res.* 42(4): 481-486.
- Karademir, G., Karademir, B. (2003).** Yem katkı maddesi olarak kullanılan biyoteknolojik ürünler. *Lalahan Hay. Araş. Enst. Derg.* 43: 61-74.
- Katircioğlu, H., Aksöz, N. (2003).** Tek hücre proteini. *Orlab Mikr. Derg.* 1(8), 34- 49.
- Kowalik, B., Skomial, J., Miltko, R., Majewska, M. (2016).** The effect of live *Saccharomyces cerevisiae* yeast in the diet of rams on the digestibility of nutrients, nitrogen and mineral retention and blood serum biochemical parameters. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 40: 534-539.
- Kutlu, H.R., Serbester, U. (2014).** Ruminant beslemede son gelişmeler. *Türk Tarım-Gıda Bil. Tekn. Derg.*, 2(1):18-37.
- Küçükylmaz, K., Bozkurt, M., Çatlı, A.U., Çınar, M., Bintaş, E. (2012).** Yeme dehidre maya ve humat bileşik katılmasının etlik piliçlerin performans ve bazı kesim özellikleri üzerine etkileri. *SDU Ziraat Fak. Derg.* 7(1): 83-92.
- Lee, S.S., Ha, J., Cheng, K.J. (2000).** Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. *Anim. Feed Sci. Tech.* 88: 201-217.
- Lima, L.S., Alcalde, C.R., Gomes, L.C., Souza, R., Rigolon, L.P., Nakamura, C.V. (2012).** Effect of inactive dry yeast from sugar cane as protein source on rumen fermentation in Saanen goats. *Arg. Bras. Med. Vet. Zootec.* 64(1): 145-154.
- McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beaver, D., Newbold, C.J. (2003).** Effects of essential oils

- on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(8):5011.
- Moharrery, A., Asadi, E. (2009).** Effects of supplementing malate and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on the rumen enzyme profile and growth performance of lambs. *J. Anim. Feed Sci.* 18: 283-295.
- Newbold, C.J., Wallace, R.J., Chen, X.B., McIntosh, F.M. (1996).** Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *Brit. J. Nutr.* 76: 249-261.
- Niyas, P.A., Chaidanya, K., Shaji, S., Sejian, V., Bhatta, R., Bagath, M., Rao, G., Kurien, E., Girish, V. (2015).** Adaptation of livestock to environmental challenges. *J. Vet. Sci. Med. Diagn.* 4: 3.
- Nursoy, H., Baytok, E. (2003).** Ekmek mayasının süt ineği rasyonlarında kullanılmasının süt verimi, bazı rumen sıvısı parametreleri ve kan metabolitleri üzerine etkisi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 27: 7-13.
- Oeztuerk, H. (2009).** Effects of live and autoclaved yeast cultures on ruminal fermentation in vitro. *J. Anim. Feed Sci.* 18: 142–150.
- Opsi, F., Fortina, R., Tassone, S., Bodas, R., Lopez, S. (2012).** Effects of inactivated and live cells of *Saccharomyces cerevisiae* on in vitro ruminal fermentation of diets with different forage:concentrate ratio. *J. Agric. Sci.* 150: 271–283.
- Öztürk, H. (2008).** Ruminant beslemesinde probiyotik mayalar. *Vet. Hekim Der. Derg.* 79: 3742.
- Patra, A.K. (2012).** The use of live yeast products as microbial feed additives in ruminant nutrition. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 7(5): 366-375.
- Pina, D.S., Valadares, F.S.C., Valadares, R.F.D., Campos, J.M.S., Detmann, E., Marcondes, M.I., Oliveira, A.S., Teixeira, R.M.A. (2006).** Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes. produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. *Revista Brasileira de Zootec.* 35:1543-1551.
- Rufino, L.D.A., Pereira, O.G., Ribeiro, K.G., Valadares, F.S.C. (2013).** Effect of substitution of soybean meal for inactive dry yeast on diet digestibility, lamb's growth and meat quality. *Small Rum. Res.* 111: 56-62.
- Sarıpınar, D., Sulu, N. (2005).** Ruminantlarda probiyotiklerin kullanımı ve rumene etkileri. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 11(1): 93-98.
- Sawsan, M.G., Tawila, M.A., Abou Ward, G.A., Salama, R., Soad, E. (2012).** Determine the proper level of yeast with different levels of roughages to improve the nutritive value of lambs ration. *Life Sci. J.* 9(3):1773-1780.
- Tang, S.X., Tayo, G.O., Tan, Z.L., Sun, Z.H., Shen, L.X., Zhou, C.S., Xiao, W.J., Ren, G.P., Han, X.F., Shen, S.B. (2008).** Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on in vitro fermentation characteristics of low-quality cereal straws. *J. Anim. Sci.* 86: 1164-1172.
- Tripathi, M.K., Karim, S.A. (2011).** Effect of yeast cultures supplementation on live weight change. rumen fermentation. ciliate protozoa population. microbial hydrolytic enzymes status and slaughtering performance of growing lamb. *Livestock Sci.* 135: 17-25.
- Wallace, R.J. (2013).** Ruminal microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: progress and problems. *J. Anim. Sci.* 72: 2992-3003.
- Wanapat, M., Pichad, K., Pawadee, P., Sadudee, W. (2008).** Effect of supplementation of garlic powder on rumen ecology and digestibility of nutrients in ruminants. *J. Sci. Food Agric.* 88(13): 2231–2237.
- Vyas, D., Uwizeye, A., Mohammed, R., Yang, W.Z., Walker, N.D., Beauchemin, K.A. (2014).** The effects of active dried and killed dried yeast on subacute ruminal acidosis, ruminal fermentation and nutrient digestibility in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 92: 724–732.
- Yalçın, S., Can, P., Gürdal, A.O., Bağcı, C., Eltan, Ö. (2011).** The nutritive value of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and its effect on milk yield, milk composition and some blood parameters on dairy cows. *Asian-Australian J. Anim. Sci.* 24: 1377-1385.
- Zain, M., Jamarun, N., Arnim, A., Ningrat, R.W.S., Herawati, R. (2011).** Effect of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on fermentability, microbial population and digestibility of low quality roughage in vitro. *Archiva Zootech.* 14(4): 51-58.

The role of organic urine sediment analysis in the monitoring of renal disease

ABSTRACT

Cytological analysis of urine sediment is an integral part of urine analysis and a useful, cost-effective diagnostic tool for all routine clinical examinations, which can sometimes be overlooked in veterinary practice. Proper handling and timely urine sample analysis are essential for valid microscopic analysis. Microscopic urinary sediment testing is usually carried out with stained or unstained specimen. A common urine may contain a small number of cells (erythrocytes and leukocytes, epithelial cells) of several crystals, spermatozooids (male animals). In contrast, a large number of cells or casts, the presence of unusual types of crystals, neoplastic cells, parasites, and microorganisms refer to abnormal findings and thus require a specialized diagnostic approach. Correct identification of organic components of the urinary sediment are crucial for accurate and timely diagnosis of kidney disorders. Laboratory experts should be trained to properly identify and classify organic components of the urinary tract.

Keywords: Urinary sediment, microscopic evaluation, pre-analytic and analytical factors of urine analysis

INTRODUCTION

Urine is a body fluid that has the potential to answer many of the body's secrets. Urine processing, as the first biological material, for the purpose of diagnostic information goes far into the past and is the source of scientific knowledge about the human and animal body. The first beginnings of microscopy were already recorded in the first half of the 17th century (Sikirica et. al., 2002). Cytological examination of urine includes urine sediment analysis that may be spontaneously urinated, catheterized or obtained by percutaneous puncture of *vezicae urinariae*. (Chew and Di Bartola, 2004). Urine cytology is useful in the detection and diagnosis of various benign diseases and conditions such as infections of different etiologies, and in distinguishing hematuria from the upper and/or lower urinary tract. In addition, it is useful in detecting inflammation in the bladder and kidney (Caleffi and Lippi, 2005; Bottini et.al., 2005; Bakan et. al., 2016; Alatzas et.al., 2012; Sikirica et. al., 2002). In human medicine cytology can predict the rejection of transplants in more than 64% of patients with renal transplantation prior to the clinically recognizable organ rejection (Eggenberger et. al., 1988).

Indications for cytological examination of the urine are: screening of asymptomatic patients exposed to carcinogens, triage of symptomatic patients, detection of non-neoplastic, premalignant and malignant lesions, metastatic tumors, lesions that cannot be detected by cystoscopy or biopsy, and monitoring of therapy (Ostović, 2015). First of all, an identification of the urinary sediment is crucial for the accuracy and timely diagnosis of renal disorders (Caleffi and Lippi, 2015).

How to cite this article

Katica, M., Hassan-Ahmed, N., Salkić, A., Mukača, A., Bašić, A., Dervišević, E. (2019) The role of organic urine sediment analysis in the monitoring of renal disease. *J Adv VetBio Sci Tech*. 4(1): 40-50. DOI: <http://doi.org/10.31797/vetbio.524209>

Review

Muhamed Katica¹
Nasreldin Hassan Ahmed²
Alen Salkić³
Adis Mukača⁴
Ajdin Bašić⁵
Emina Dervišević⁶

¹Department of pathological physiology, Veterinary faculty, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, [ORCID: 0000-0002-8184-0065](https://orcid.org/0000-0002-8184-0065)

²Emergency medicine clinic, University Clinical center Sarajevo, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, [ORCID: 0000-0002-5728-7052](https://orcid.org/0000-0002-5728-7052)

³The owner of the veterinary station, Dr. Salkić d.o.o. - Travnik, Bosnia and Herzegovina, [ORCID: 0000-0002-5728-7052](https://orcid.org/0000-0002-5728-7052)

⁴Cantonal Veterinary Inspector, Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina, [ORCID: 0000-0002-5728-7052](https://orcid.org/0000-0002-5728-7052)

⁵Director of Veterinary Station Bugojno, Bosnia and Herzegovina, [ORCID: 0000-0002-5728-7052](https://orcid.org/0000-0002-5728-7052)

⁶Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, [ORCID: 0000-0002-5728-7052](https://orcid.org/0000-0002-5728-7052)

Correspondence

Dr.sc. Muhamed Katica, Docent
Department of pathological physiology
Veterinary faculty,
University of Sarajevo
Zmaja od Bosne 90 / 71000 Sarajevo
Bosna i Hercegovina
++387 33 729 155
E-mail: muhamed.katica@vfs.unsa.ba

Article info

Submission: 08-02-2019
Accepted: 26-04-2019
Online published: 28-04-2019

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



e-ISSN: 2548-1150
website: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>
doi prefix: 10.31797/vetbio.

Credit for the scientific development in research of urinary corpuscular elements over the past 10 years goes to the automated analyzers or automated microscopy, or more specifically, to the flow cytometry and digital imaging systems (Anderlini et al., 2015; Bakan et al., 2016; Bogaert et al., 2016; Oyaert, and Delanghe, 2018). However, the total accuracy of these instruments in identifying (erythrocytes, leukocytes, epithelial cells, casts) is questionable. The gold standard for the study of urinary sediment elements, or the best identification, is still based on traditional, phase-contrast microscopic, manual analysis with low and high power magnification (Bogaert et al., 2016; Caleffi and Lippi, 2015; European Confederation of Laboratory Medicine, 2000; Clinical and Laboratory Standard Institute, 2009).

This review article focuses on pre-analytic and analytical factors that influence the urinary sediment identification, as well as on the normally expected sediment elements and the clinically relevant interpretation of abnormal findings of urinary sediment in some renal diseases.

Pre-analytic and analytical factors affecting urinary sediment identification

Different methods of collecting urine (medium discharge, catheterization or percutaneous cystocentesis) all have advantages and disadvantages, and the clinician must decide on the best method of urine collection, depending on the medical background of the animal disease and specific cases of urine analysis (Alatzas et al., 2012). Several pre-analytic issues related to collecting, transporting, and storing of the samples present a serious challenge to the quality of urine analysis. (Caleffi et al., 2010; Fogazzi, 2010). The collection method of urine sample can affect the results of the analysis. Standardized urine volumes should be obtained each time, to allow for comparisons of urine sediment and comparisons to the subsequent samples (Reine and Langston, 2005).

During the analytical phase, alkaline urine favors the lysis of cellular elements. Such adverse environment causes the imprecise identification and classification of urinary sediment elements. In addition, there is a large amount of amorphous

phosphates and crystals. (Fogazzi, 2010; Caleffi and Lippi, 2015).

It is very important to be careful when transporting and storing samples. Storage of urine samples for more than 3 hours can cause lysis and degeneration of urinary sediment elements (Manoni et al., 2008). The sample should be stored at +4 °C. Such storage should be as short as possible, due to the tendency of phosphate and urate salts to settle down. They often hide diagnostically significant organic elements of the urine sediment. The sample can be stored at the room temperature of +20 °C, if the analysis takes place within 30 minutes, because lysis of cellular elements after that time (Sikirica et al., 2002). There is a report confirming the conservation of up to 90 days of organic components of urine sediment, if conserved with 3% sodium phosphate-formaldehyde prior to the storage (Bottini et al., 2005).

Volume of urine for centrifugation

The volume of urine for centrifugation must be precisely defined and is usually in the range between 5 - 15 ml (Sikirica et al., 2002). Since it always has to be equal, the use of single-layer polystyrene tubes with a conical bottom is recommended, marked with chosen volumes of urine for centrifugation. Each change in the volume of urine taken for analysis must be indicated for accurate quantification of cellular elements. To minimize mechanical damage to the cells and simultaneously quantitatively sediment, the recommended centrifugation time is 5 minutes 2500-3000 rpm (Sikirica et al., 2002). The next step is to remove urine supernatants from the upper area. The precipitate is mixed with the rest of the urine (about 0.5 ml) and using a pipette, a drop is placed on a glass slide and covered with a glass cover slip (Alatzas et al., 2012).

Supravital staining of urine sediment

To obtain a stained preparation, the precipitate is mixed with a stain, for example, New Methylene Blue (Alatzas et al., 2012). 10% of stain of the urine sediment volume is added to the urine sediment, for example, 0.5 ml of urine sediment and 50 microliters of stain. In order for the sediment to come into contact with the stain, it is necessary to stir the test tube lightly and allow it to stand for 5-10 minutes. Coloring starts right away, where color intensity is

increasing particularly in the first five minutes. (Kouri et al., 2000; Sikirica et al., 2002; Chew and Di Bartola, 2004).

To prepare the preparations fixated in methanol, a drop of the precipitated urine is placed on a glass slide, dried and fixed, and later stained using conventional coloring procedures (e.g., Diff Quick staining technique or another staining procedure) (Swenson et al., 2004; Alatzas et al., 2012).

Microscopic treatment of the urine sediment obtained in such a way is the most complex part of the analytical procedure because it requires education, long-term exercise and a good optical instrument.

Hematuria

Hematuria may be a consequence of a minor or an abundant bleeding, caused by lesions of distal or proximal parts of the urinary tract, or the consequence of a systemic coagulopathy (Figure 1). In dogs and cats, hematuria is most commonly a consequence of the lower urinary system disease (Adamama-Moraitou, 2017; White et al., 2008; Forrester, 2004). It may also be caused by infections, inflammatory diseases, stones, trauma, haematological disorders, prostate enlargement and tumors (Kardum-Skelin, 2004; Sharma et al., 2009; Nakamura et al., 2009; Knežević et al., 2011).

Cytologic analysis of the urinary sediment can point to some diseases associated with erythrocytosis such as lithiasis, glomerulonephritis, or it can help diagnose bladder inflammation (Ostović, 2015).

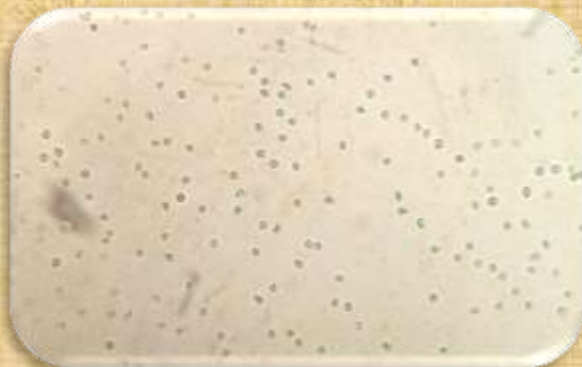


Figure 1. A multitude of erythrocytes in the urinary sediment (macrohematuria), in an unstained smear, 100x magnification.

The presence of 80% and more of the dysmorphic erythrocytes during urinary sediment analysis in presented microscopic fields (Figure. 2) indicates

bleeding from the upper part of the urinary tract, while 80% and more of the smooth (normal) erythrocytes in presented microscopic fields indicate bleeding from the lower part of the urinary tract (Kardum-Skelin, 2004; Knežević et al., 2011).



Figure 2. Dysmorphic erythrocytes (white arrows), in an unstained smear 400x magnification

Renal causes of hematuria include glomerular diseases and non-glomerular states including neoplasia, nephroliths, trauma, pielonephritis and idiopathic kidney hematuria (Adamama-Moraitou, 2017; Forrester, 2004). Hematuria is not a pronounced characteristic of glomerular disease in cats and dogs (Nash et al. 1979, Cook and Cowgill, 1996). A normal urine sediment should contain very little erythrocytes, depending on the way the urine was obtained. The threshold of microscopic hematuria in human medicine is 3 erythrocytes/hpf, as established by the American Urological Association (Adamama-Moraitou et al., 2017; Grossfeld et al. 2001). The limit value of microscopic hematuria in veterinary medicine is set to ≥ 8 erythrocyte/hpf in fresh urine, to ≥ 5 for the urine samples obtained by catheterization, and to ≥ 3 erythrocyte/hpf for samples collected by cystocentesis (Chew and Di Bartol, 2004). Depending on the extent of trauma during the collection of urine samples, especially in repeated cystocenteses, it is possible to find up to ≥ 50 erythrocyte/hpf (Chew et al., 2011; Chew and Di Bartola, 2004).

The urine sediment content is affected by its specific gravity. For example, 10 erythrocyte/hpf in a urine

sample with a specific gravity of 1.014 may be comparable to 20 to 30 erythrocyte/hpf in a urine sample with a specific gravity of 1.050 (Chew and Di Bartola, 2004). Erythrocytes in highly concentrated urine will be smaller in diameter, while in a very diluted one they will cause swelling of the erythrocytes (Chew and Di Bartola, 2004).

Leukocyturia

An increased number of leukocytes (pyuria) indicates inflammatory processes or contamination of the urinary tract. A huge amount of leukocytes, primarily neutrophils, indicates the presence of bacteria, for example of pyelonephritis (Jerkić and Božić, 2012). Leukocytes in an unstained and stained smear of the urinary sediment are greater by 150-200% than erythrocytes (Figure 3.) (Alatzas et al., 2012; Chew and Di Bartola, 2004).

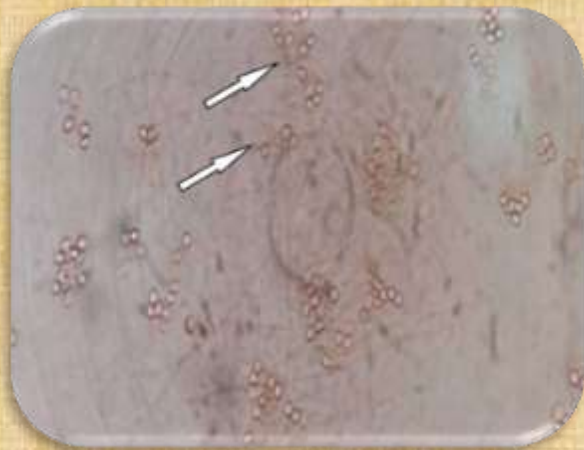


Figure 3. Leukocytes in an unstained smear (white arrow) of the urinary sediment, 100x magnification

Lymphocytes and monocytes are difficult to distinguish from small kidney epithelial cells in the urinary sediment (Chew and Di Bartola, 2004). Leukocytes follow the same criteria when declaring leukocyturia; urine obtained spontaneously ≥ 8 leukocytes/hpf, after catheterisation ≥ 5 , and ≥ 3 leukocytes/hpf for samples collected by cystocentesis (Chew and Di Bartola, 2004; Di Bartola et al., 2011; Alatzas et al., 2011) Leukocyte groups often occur with bacterial infections of the urinary system even when bacteria are not visible. Careful examination of the space in between piled neutrophils often helps with recognizing bacteria (Chew and Di Bartola, 2004).

Cylindruria

The casts are important components of the urine sediment as they can be associated with a number of renal disorders whose diagnosis may also be proper urine identification (Rizzi et. al, 2017; Caleffi and Lippi, 2015; Chew and Di Bartola, 2004). It is also necessary to know that urine sampling after intense physical activity can cause, among other things, severe cylindruria. It is not advisable to examine too alkaline urine because such an environment prevents the formation of casts and favors the lysis of other cellular elements. Additional conditions that may violate the exact identification and classification of casts include: contamination of the sample with genital secretions, the presence of large amounts of amorphous phosphates and crystals, as well as the urine of low urine specific gravity (Fogazzi, 2010; Caleffi and Lippi, 2015). The cylinders faithfully depict the inner tubular lumen of the ascending parts of the Henle loop, the distal tubules or the kidney collection canals, where they are created. The narrowest diameters have those originating from the Henle loop, while the widest ones are those coming from the collection canals (Rizzi et al., 2017). They are made out of a specific matrix, i.e. Tamm-Horsfall glycoprotein (THG), with most commonly added epithelial cells and/or blood corpuscles (erythrocytes, leukocytes). It is of the utmost importance to note that the casts are formed in the kidney tubules, and all the elements embedded in the cast matrix come from the kidneys, so being of great diagnostic importance (Fogazzi, 2010; Caleffi and Lippi, 2015).

Classification and clinical significance of casts

Numerous literary citations describe a wide range of kidney casts. For didactic and educational reasons, they are differentiated according to the size and morphological characteristics that depend on the types of embedded cells (Table 1.) (Chew et al., 2011; Rizzi et al., 2017; Fogazzi, 2010; Caleffi and Lippi 2015; Chew and Di Bartola, 2004; Alatzas et al., 2012). Sikrica et al. (2002) note that there are different levels of microscopic classification in the clinical treatment of urine. According to this classification, the left column (Type) of Table 1. shows a baseline level, while the right column (Subtype) of Table 1. shows an additional level of

microscopic classification in the clinical treatment of urine.

Table 1. Classification of casts.

Type	Subtype
Hyaline	-
Granular	Finely granular
	Coarsely granular
Waxy	-
Broad cast	-
Fatty	-
Cellular	Leukocytic
	Erythrocytic
	Epithelial
Mixed	Hyaline-granular
	Granular-celular
	Granular-fatty
	Waxy-granular
	Waxy-celular
Blood cast	(they can be of any subtype, waxy one prevailing)
Pigmented	Haemoglobinic
	Myoglobinic
	Bilirubinic
Containing microorganisms	Bacterial
	Candida

Hyaline cast

Hyaline cast (Figure 4) are composed of only THG and they are precursors of all other cylinders (Alatzas et al., 2012) and it casts can exist in various forms, such as compact, bent or wrinkled shapes (Alatzas et al., 2012); Caleffi and Lippi, 2015).

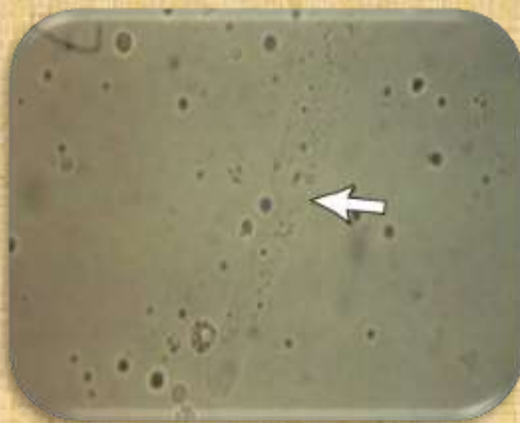


Figure 4. Hyaline cast, unstained preparation, 400x magnification (white arrow)(Chew and Di Bartola, 2004).

Their refractive index is very low, which is why they appear to be very gentle structures that must be observed first at a low magnification in order for them not to be overlooked (Sikirica et al., 2002). In native preparations hyaline casts are pale, colorless,

and so it is difficult to see them and they can easily be neglected. Low number of hyaline castings, up to 2 hyaline casts/lpf, can be found in concentrated urine samples of normal dogs and cats (Rizzi et al., 2017). Hyaline casts can be found in healthy animals but only with particular physiological conditions, such as exposure to heavy physical activity, but also with non-renal disorders such as fever, dehydration, acute congestive heart failure (Caleffi and Lippi, 2015).

Erythrocyte casts

They are made up of Tamm-Horsfall's protein, to which are imbedded intact erythrocytes, of normal morphology (Figure 5.). If the erythrocytes are fully lysed, in the preparation they appear as cylinders of homogeneous structure and characteristic red-brown color, and then represent a blood or hemoglobin cast (Figure 6.). Their presence in the urine is always an indicator of bleeding from the kidney parenchyma. They are not present in the urine of healthy animals (Ringsrud, 2001^a; Sikirica et al., 2002).



Figure 5. Erythrocyte cast, stained preparation, 400x magnification(Chew and Di Bartola, 2004).



Figure 6. Blood cast (hemoglobin cast or blood cast), stained preparation, 400x magnification (Chew and Di Bartola, 2004).

Leukocyte casts

They represent mucoprotein casts with incorporated leukocytes, most common being neutrophilic leukocytes (Figure 7). Leukocytes may be intact or degeneratively altered. Their number per cast varies, so casts found can be the ones with many neutrophils or with a few scattered ones throughout the whole cast. They are present in various infectious, chronic and acute kidney diseases, most often in pyelonephritis. They are not present in the urine of healthy animals (Jerkić and Božić, 2012; Sikirica et al., 2002).

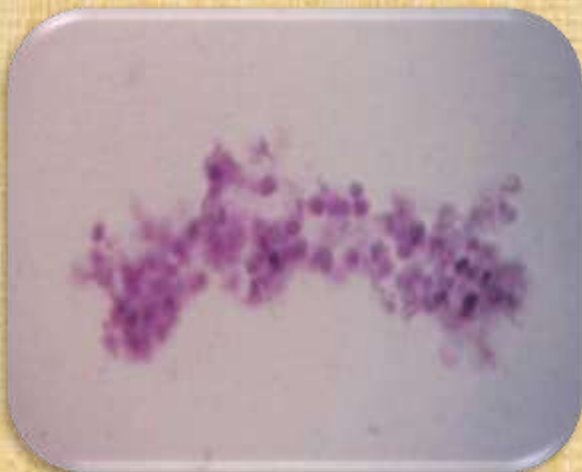


Figure 7. Leukocyte cast, stained preparation, 400x magnification (Chew and Di Bartola, 2004).

Epithelial casts

They are made out of mucoprotein matrix and kidney tubular epithelial cells (Figure 8.). Cells have very often degenerated and are very difficult to identify, a result from tubular damage. Cellular degeneration changes are manifested in the form of granules, as well as in the appearance of fat drops. Such casts are present in urine in cases where spare kidney tubular epithelial cells can be found. They are not present in the urine of healthy animals (Chew and Di Bartola, 2004; Sikirica et al., 2002).

Granulated casts

These cylinders consist of granules, which may vary in size, ranging from fine, granulated casts (Figure 9.) to crude, big-granule casts. It has been demonstrated that, in patients with proteinuria, fine granules contain ultrafiltrated proteins that have been reabsorbed through tubular epithelium, whereas roughly granulated casts are noted in patients without an evident proteinuria, likely derived from degeneration of cellular elements, such as

leukocytes, epithelial cells etc. The presence of granular casts always indicates a kidney injury (Rutecky et al., 1971; Orita et al., 1977; Caleffi and Lippi, 2015).

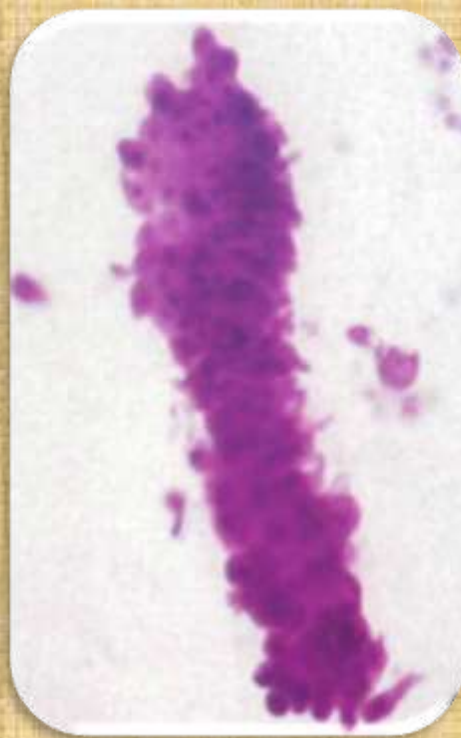


Figure 8. Epithelial cast, stained preparation, 400x magnification (Chew and Di Bartola, 2004).

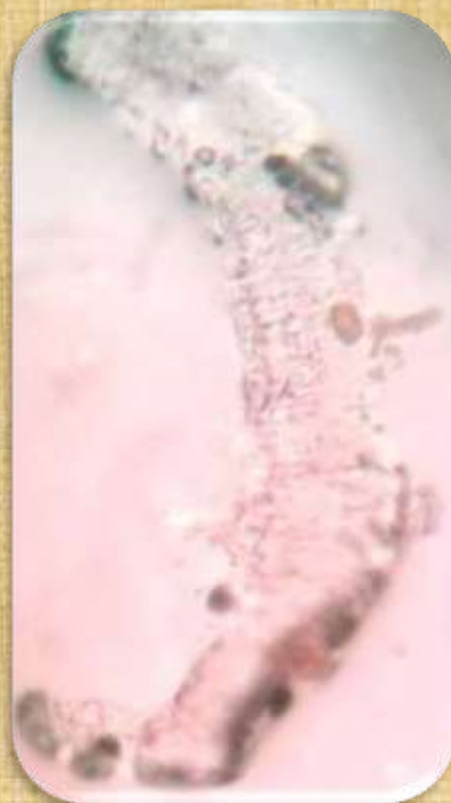


Figure 9. Finely granulated cast, unstained preparation, 400x magnification

Wide casts

They can be of any subtype (Figure 10., Table 1.). They are usually formed through collection canals, where normal, high velocity of urine flow is present. In order to form a cast in this part of the nephron, urine flow rate must be seriously reduced. They can also be formed in highly dilated parts of distal

tubules. The presence of a large number of wide outflows in the urinary sediment indicates severe kidney disease, but may also indicate recovery as oliguria becomes diuresis in patients with acute renal insufficiency. Most common wide casts are waxy casts (Figure 11.) due to longer intrarenal stoppages (Rizzi et.al., 2017; Chew and Di Bartola, 2004).

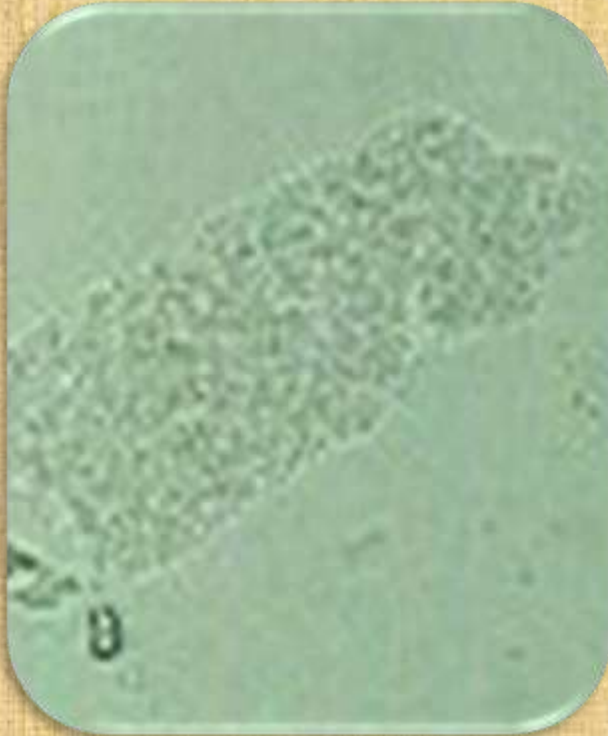


Figure 10. Wide cast, unstained preparation, 400x magnification.

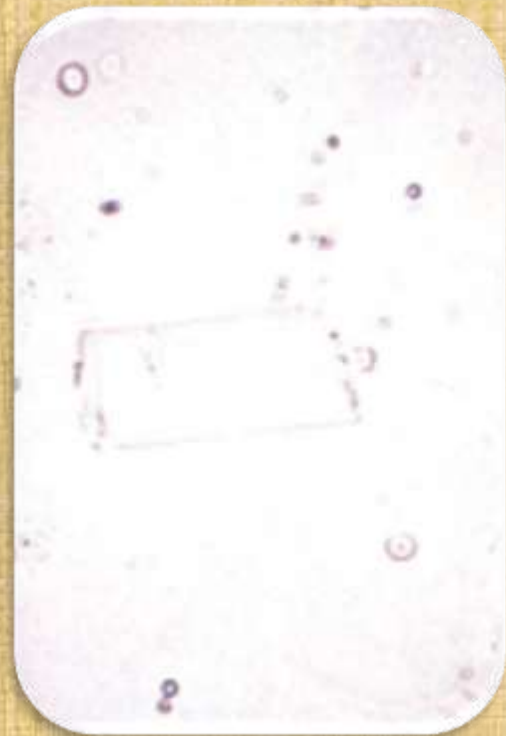


Figure 11. Waxy cast, unstained preparation 560xmagnification (Chew and Di Bartola, 2004).

Waxy casts

Waxy casts (Figure 11.) are rare in the urine of domestic animals and are considered final stages of degenerated granulated casts (Rizzi et al., 2017). They are present in the urinary sediment in case of a renal function impairment; acute or chronic, renal amyloidosis (Caleffi and Lippi, 2015; Chew and Di Bartola, 2004). Their structure is not clearly known, and recent research suggests that waxy casts in patients with glomerulonephritis do not contain

Tam-Horsal Glucoproteins (THG), and instead contain blood plasma proteins (Spinelli et al., 2013; Chew and Di Bartola, 2004).

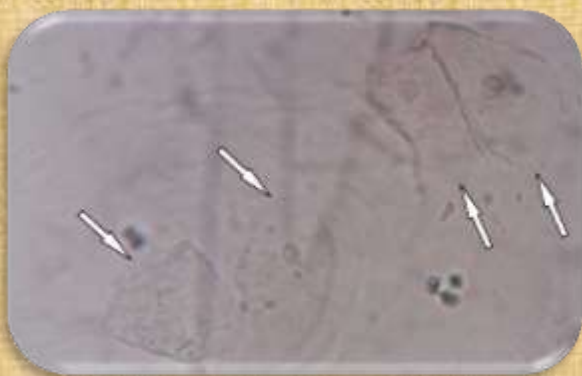
Epithelial cells

Epithelial cells coming from the urinary and genital tract differ greatly in size. Generally, the smallest epithelial cells are formed in kidneys, but other small

cells and slightly larger cells also originate from urethra, bladder and proximal urethra. The largest non-neoplastic cells come from the distal part of the urethra, vagina and foreskin. The urine of normal dogs and cats contains several epithelial cells in visible microscopic fields during the urinary sediment analysis.

Squamous epithelium

Squamous epithelium is the largest cell in the urinary sediment, 40-60 micrometers long in diameter. It originates from the marginal segments of urethra and vagina, which is why it is often present in a small number in the urine sediment. These are polygonal cells, of rounded corners, whose cytoplasm is abundant, and nucleus small and centrally laid (Figures 12. and 13.).



12



13

Figure 12 and 13. Squamous epithelial cells, unstained preparation, 400x magnification (white arrows).

They come individually, but often in clusters too. If there are enough squamous epithelial cells present in the sediment, with no leukocytes, it suggests that they originate from the lower parts of the urethra, and in most cases represent a contamination due to incorrect shrinkage or poorly applied hygiene of the external genitalia. Such finding has no diagnostic significance, and if a large number of leukocytes is present, vaginal contamination must be excluded to confirm uroinfection. In very rare cases of malignant processes in the lower parts of the urinary system, squamous epithelial cells can be found in the urinary sediment, but then they show changes in structure and shape of the nucleus. In the case of such finding, detailed cytological treatment is required (Ringsrud 2001; Sikirica et al., 2002; Fogazzi, 2010).

Transitional epithelium

Transitional epithelium is a highly specific epithelium that mostly covers urinary tract pathways, renal pelvis, bladder and proximal part of the urethra. Morphological appearance of the cell depends on the layer from which it originates, so that if they come

from the surface layers, they are usually large polygonal, round or oval mononuclear cells of 30-40 micrometers in diameter, with round or oval nucleus centrally or slightly eccentrically placed. These cells are usually found when there is an infection of the lower parts of the urinary system or some other urological disorder (Figure 14.).



Figure 14. Transitional epithelial cells, stained preparation, 400x magnification (Sikirica et.al., 2002).

Transitional epithelial cells from deeper layers are smaller than cells from the surface layers, but come in many more different shapes. In addition to small round or oval cells, they can appear as though with a “tail”, elongated in the form of a baseball bat. Small round cells have a large, centrally laid nucleus with a gentle cytoplasmic ring, and so can easily be mistaken for a tubular epithelium. (Ringsrud, 2001; Sikirica et al., 2002; Fogazzi, 2010).

Kidney tubular epithelium

Kidney tubular epithelium is a single-layer epithelium that covers nephron, including cells that incase the glomeruli, proximal and distal tubules as well as the collection canals that are therefore present in a large number of different shapes. The kidney-tubular epithelial cells are usually about 13 micrometers long in diameter, round or oval with a large, central or slightly eccentrically placed nucleus, which contains one to two nucleolus. The cells that originate from the collection canals are square shaped. The cells that come from proximal tubules are relatively larger, oval or elongated granulated cells. The appearance of these cells in the urine is associated with acute tubular necrosis. They are also present in cases of fever, various toxic damage, drug damage, poisoning of heavy metals, various inflammations, infections, and are also noticed in neoplasms. Their distinction is quite difficult, and

they can easily be mistaken for small oval cells from deeper layers of transitional epithelial cells. Tubular cells are usually associated with findings suggesting parenchymal kidney disease such as dysmorphic erythrocytes, casts or lipids, while transitional epithelium is present with leukocytes, isomorphic ("normal") erythrocytes, bacteria or crystals. Their cytoplasm turns red when supravital staining is used, while nucleus turns blue. In patients with abundant proteinuria they may also contain fat droplets. Sometimes, but very rarely, they can be found in healthy urine as a result of epithelial regeneration (Sikirica et al., 2002; Fogazzi, 2010; Ringsrud, 2001)

Lipid cells

They represent fatty degeneration of the kidney-tubular epithelium, and in urine they usually appear as free droplets of fat or tubular epithelial cells saturated with lipids, so-called oval fat bodies. They can also be incorporated in fat cylinders, as well as in cholesterol crystals. They are present in urine if the glomerular basement membrane is damaged, which is why they freely pass through to the urine. As lipids bind to proteins, lipiduria is a typical sign of abundant proteinuria. Lipid cells vary greatly in size, from 2 to 50 micrometers in diameter, in color yellow to light brown, with a very large refractive index. Lipid cells are normally not present in the urine of healthy individuals (Sikirica et al., 2002; Fogazzi, 2010; Ringsrud, 2001).

The causes of infections and infestations

Bacteria are not present in the urine of healthy individuals, but a smaller number can be found due to contamination, inappropriate urine collection or longer storage on a room temperature. Accurate identification can only be given on the basis of a microbiological test. The fungus are round or oval shaped, homogeneous, without inclusion. They can also appear in the form of hypha. Urine parasites are usually the result of genital or fecal contamination. Contamination artifacts are all elements that come in the urine externally, such as hair, fibers, powders, etc. (Sikirica et al., 2001; Fogazzi, 2010).

CONCLUSION

Organic urinary sediment analysis is considered to be an important tool for diagnosing kidney diseases. It is necessary to provide better assumptions for successful manual microscopic analysis of urinary sediment; proper sampling of urine, staining of urinary sediment and good knowledge of morphological characteristics of organic components of urinary sediment. Each routine clinical examination of patients should, in addition to other tests, contain urine analysis, including urinary sediment analysis. Unfortunately, this cheap and fast analysis is often omitted in veterinary practice, even though it can be very useful.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors express their deepest gratitude to their colleagues: Nermin Mujkić, Anja Kovačević and Esmā Kadrić, students of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Sarajevo for technical assistance during the preparation of microscopic images of the unstained urinary sediment preparations.

REFERENCES

- Adamama-Moraitou, K.K., Pardali, D., Prassinou, N.N., Menexes, G., Patsikas, M.N., Rallis, T.S. (2017).** Evaluation of dogs with macroscopic haematuria: a retrospective study of 162 cases (2003–2010) *New Zealand Veterinary Journal*, 65(4), 204–208.
- Alatzas, D.G., Mylonakis, M.E., Polyzopoulou, Z.S., Koutinas, A.F. (2012).** Urine sediment evaluation in the dog and cat. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 63(2), 135-146.
- Anderlini, R., Manieri, G., Lucchi, G., Raisi, O., Soliera, A.R., Torricelli, F., Varani, M., Trenti, T. (2015).** Automated urinalysis with expert review for incidental identification of atypical urothelial cells: An anticipated bladder carcinoma diagnosis, *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 451(Pt B), 252-256.
- Bakan, E., Ozturk, N., Kilic Baygutalp, N., Polat, E., Akpınar, K., Dorman, E., Polat, H., Bakan, N. (2016).** Comparison of Cobas 6500 and Iris IQ200 fully-automated urine analyzers to manual urine microscopy *Biochimica Medica*, 26(3), 635–75.
- Bogaert, L., Peeters, B., Billen, J. (2016).** Evaluation of a new automated microscopy urinesediment analyser – sediMAX conTRUST®, *Acta Clinica Belgica*, 72(2), 91-94. Doi: 10.1080/17843286.2016.1249999
- Bottini, P.V., Garlipp, C.R., Lauand, J.R., Cioffi, S.G.L., Afaz, S.H., Prates, R.L. (2005).** Glomerular

- and Non-Glomerular Haematuria: Preservation of Urine Sediment. *Lab Medicine*, 36(10), 647-649.
- Caleffi, A., Lippi, G. (2015).** Cylindruria. *Clin Chem Lab Med*, aop. 1-7. Doi: 10.1515/cclm-2015-0480
- Caleffi, A., Manoni, F., Alessio, M.G., Ottomano, C., Lippi, G. (2010).** Quality in the extra analytical phases of urinalysis. *Biochem Med*, 20, 179–183.
- Chew, D.J., Di Bartola, S.P. (2004).** Interpretation of Canine and Feline Urinalysis. Clinical Handbook Series. USA: The Gloyd Group, Inc. Wilmington, Delaware.
- Chew, D.J., Di Bartola, S.P., Schenck, P.A. (2011).** *Canine and Feline Nephrology and Urology*. 2nd ed. USA: Elsevier Saunders, St. Louis. Clinical and Laboratory Standard Institute (ex NCCLS) (2009). GP16- A3-Urinalysis; approved guideline, 3rd ed. Wayne, PA: CLSI, Comparison of Cobas 6500 and Iris IQ200 fully-automated urine analyzers to manual urine microscopy *Biochemia Medica*, 26(3), 635–75.
- Cook, A.K., Cowgill, L.D. (1996).** Clinical and pathological features of protein-losing glomerular disease in the dog: A review of 137 cases (1985-1992). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 32(4), 313-322.
- Eggensperger, D., Schweitzer, S., Ferriol, E., O' Dowd, G., Light, J.A. (1988).** The utility of cytodagnostic urinalysis for monitoring renal allograft injury. A clinicopathological analysis of 87 patients and over 1000 urine specimens. *Am J Nephrol*, 8 (1), 27-34.
- European Confederation of Laboratory Medicine. (2000).** European urinalysis guidelines. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 231, 1–86.
- Fogazzi, G. B. (2010).** The urinary sediment. An integrated view, 3rd ed. Milan: Masson Elsevier.
- Forrester, S. (2004).** Diagnostic approach to hematuria in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice*, 34, 849e867.
- Grossfeld, G.D., Litwin, M.S., Wolf, J.S., Hricak, H., Schuler, C.L., Agarter, D.C., Carroll, P.R. (2001).** Evaluation of asymptomatic microscopic hematuria in adults: The American Urological Association best practice policy – part I: definition, detection, prevalence, and etiology. *Urology*, 57, 599–603.
- Jerkić, M., Božić, T. (2012).** Poremećaj funkcije bubrega. U: Božić T (ur.), *Patološka fiziologija domaćih životinja*. Univerzitetski udžbenik, 2. izdanje. Naučna KMD, Beograd, Srbija, 463-490.
- Kardum-Skelin, I. (2004).** Citologija mokraće. U: Flegar- Meštrić Z (ur.), *Kliničko-biokemijska korelacija rezultata kvalitativne analize mokraće*. Medicinska naklada, Zagreb, Hrvatska, 81-106.
- Knežević, G., Parigros, K., Križaj, B., Anić, V., Pažur, M., Jelić-Puškarić, B., Šušterčić, D., Kardum-Skelin, I. (2011).** Erythrocyte morphology in urine determined by light microscopy in patients with bladder cancer. *Acta med Croatica*, 65 (Supl. 1), 121-125.
- Kouri, T., Fogazzi, G., Gant, V., Hallander, H., Hofmann, W., Guder, W.G. (2000).** European urinalysis guidelines. ECLM – European Urinalysis Group. *Scand J Clin Lab Invest* 60, Suppl 23, 11-96.
- Manoni, F., Valverde, S., Caleffi, A., Alessio, M.G., Silvestri, M.G., De Rosa, R., et al. (2008).** Stability of common analytes and urine particles stored at room temperature before automated analysis. *RIMeL – IJLaM* 4, 192–8.
- Nakamura, K., Kasraeian, A., Iczkowski, K.A., Chang, M., Pendleton, J., Anai, S., Rosser, C.J. (2009).** Utility of serial urinary cytology in the initial evaluation of the patient with microscopic hematuria. *BMC Urol*, 9, 12. doi: 10.1186/1471-2490-9-12.
- Nash, A., Wright, N., Spencer, A., Thompson, H., Fisher, E. (1979).** Membranous nephropathy in the cat: a clinical and pathological study. *Veterinary Record* 105, 71-77.
- Orita, Y., Imai, N., Ueda, N., Aoki, K., Sugimoto, K., Ando, A., et al. (1977).** Immunofluorescent studies of urinary casts. *Nephron*, 19, 19–25.
- Ostović, K.T. (2015).** Cytologic urinalysis with hematuria and glomerulonephritis. *Paediatr Croat*, 59 (Supl1), 66-71.
- Oyaert, M., Delanghe, J. (2018).** Progress in Automated Urinalysis, *Ann Lab Med*, 39, 15-22.
- Reine, N.J., Langston, C.E. (2005).** Urinalysis Interpretation: How to squeeze out the maximum information from a small sample. *Clin Tech Small Anim Pract*, 20, 2-10.
- Ringsrud, K.M. (2001).** Casts in the urine sediment. *Lab Med*, 32(4), 191-3.
- Ringsrud, K.M. (2001).** Cells in the urine sediment. *Lab Med*, 32(3), 153-5.
- Rizzi, T.E., Valenciano, A., Bowles, M., Cowell, R., Tyler, R., De Nicola, D.B. (2017).** Atlas of Canine and Feline Urinalysis. 1st ed. USA: John Wiley & Sons, Inc. Published. doi:10.1002/9781119365693.ch4
- Rutecky, G.J., Goldsmith, C., Schreiner, G.E. (1971).** Characterization of proteins in urinary casts. *N Engl J Med*, 284, 1049–52.
- Sharma, S., Ksheersagar, P., Sharma, P. (2009).** Diagnosis and treatment of bladder cancer. *Am Fam Physician*, 80 (Suppl. 7), 717-2.
- Sikirica, M., Bobetić-Vranić, T., Flegar-Meštrić, Z., Kardum-Skelin, I., Juretić, D. (2002).** Standardized analysis of supravivally stained urine sediment. *Biochemia Medica*, 12(3–4), 57-72.
- Spinelli, D., Consonni, D., Garigali, G., Fogazzi, G.B. (2013).** Waxy casts in the urinary sediment of patients with different types of glomerular

diseases: results of a prospective study. *Clin Chim Acta*, 424, 47–52.

Swenson, C.L., Boisvert, A.M., Kruger, J.M., Gibbons-Burgener, S.N. (2004). Evaluation of modified Wright-staining of urine sediment as a method for accurate detection of bacteriuria in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 224, 1282-9.

White, J.D., Norris, J.M., Bosward, K.L., Fleay, R., Malik, R. (2008). Persistent haematuria and proteinuria due to glomerular disease in related Abyssinian cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 219-229. doi:10.1016/j.jfms.2007.11.007