

ISSN: 1306-6137
e-ISSN: 2147-9615

**Atatürk Üniversitesi
Veteriner Bilimleri Dergisi**

**Atatürk University
Journal of Veterinary Sciences**

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ataunivbd>

Ekim/October

Yıl/ Year: 2019

Cilt/Volume: 14

Sayı/Issue: 2



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ
ISSN: 1306 – 6137 / e-ISSN: 2147 – 9615
ATATÜRK UNIVERSITY
JOURNAL OF VETERINARY SCIENCE



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ADINA SAHİBİ / OWNER

Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Baş Editör / Editor-in-Chief

Prof. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Prof. Dr. Ekrem LAÇIN
(İstatistik Editörü / *Statistics Editor*)

Doç. Dr. Latif Emrah YANMAZ
(Yabancı Dil Editörü / *English Editor*)

Doç. Dr. Özgür KAYNAR
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Doç. Dr. Serkan YILDIRIM
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Doç. Dr. Hakan AYDIN
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Doç. Dr. Emin ŞENGÜL
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Doç. Dr. Serdar ALTUN
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Cemal ADIGÜZEL
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

YAYIN KURULU ÜYELERİ / EDITORIAL BOARD MEMBERS

Dr. Mustafa Atasever, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Zekai Halıcı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Mustafa Alişarlı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Ardita Jahja-Hoxha, KOSOVA / KOSOVO

Dr. Aleksandra Gorecka-Bruzda, POLONYA / POLAND

Dr. Daniel Zahner, ALMANYA / GERMANY

Dr. Eva Voslarova, ÇEK CUMHURİYETİ / CZECH REPUBLIC

Dr. Tanvir Rahman, BANGLADEŞ / BANGLADESH

Sekreteryaya ve Web Tasarım *Secretariat and Web Design*

Doç. Dr. Serdar ALTUN

Dizgi *Typesetter*

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Cemal ADIGÜZEL

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., ulusal hakemli bir dergi olup Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Bu dergi, **ELSEVIER-Scopus**, **CAB Abstract**, **CABI full text**, **EBSCO**, **TÜBİTAK-ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veritabanı** ve **Türkiye Atıf Dizini** tarafından taranmaktadır.

Atatürk University J. Vet. Sci., is a refereed national journal, is published tri-annually in April, October and December. This journal is abstracted in **ELSEVIER-Scopus**, **CAB Abstract**, **CABI full text**, **EBSCO**, **TUBİTAKULAKBİM-Life Science Database** and **Türkiye Citation Index**.

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü, 25240, Kampüs Erzurum / TÜRKİYE

Tel : +90 442 2317222, Fax: +90 442 2317244

E-posta: atavetderg@atauni.edu.tr; vetdergisi@atauni.edu.tr

Yıl / Year: 2019

Cilt / Volume: 14

Sayı / Issue : 2

Bu Sayının Hakem ve Danışman Listesi / List of Referees and Advisors for This Issue

- Prof. Dr. Ahmet GÜNER, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Konya, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Ayşe Serpil NALBANTOĞLU, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Ankara, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Bestami YILMAZ, Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Şanlıurfa, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Gülşah ÇANAKÇI ADIGÜZEL, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Gürkan UÇAR, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Konya, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. İsmail KAYA, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Samsun, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Meryem KARAN, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Oğuz SARIMEHMETOĞLU, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Ankara, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Samsun, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Taylan AKSU, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Van, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Aksaray, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Ahmet Onur GİRİŞGİN, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bursa, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Akın KIRBAŞ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Cumali ÖZKAN, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Van, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Güler YENİCE, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Güngör Çağdaş DİNÇEL, Aksaray Üniversitesi, Eski Meslek Yüksekokulu, Aksaray, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Semra GÜNDÜÇ, Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Ankara, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Seyda CENGİZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi H. Serkan EROL, Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kastamonu, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Kadriye ERGÜN, Balıkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Balıkesir, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Sedat ÇETİN, Yüzüncü yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Van, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Sefa KÜÇÜKLER, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Selim ÇOMAKLI, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.

* Hakem listesi akademik unvan ve isme göre alfabetik olarak sıralanmıştır.

▶ Semine DALGA, Kadir ASLAN. A Macroanatomic and Morphometric Study on Ossicula Auditus in Male Hemshin Sheep (<i>Erkek Hemşin Koyununda Ossicula Auditus Üzerinde Makroanatomik ve Morfometrik Bir Çalışma</i>).	114-118
▶ Sevim ÇİFTÇİ YEGİN, Fatmagül YUR. The Effect of Lycopene Application on the Antioxidant Activity in Liver and Kidney Tissues of Diabetic Rats (<i>Diyabetik Ratların Karaciğer ve Böbrek Dokularındaki Antioksidan Aktivite Üzerine Likopen Uygulamasının Etkileri</i>).	119-128
▶ Süleyman Ercüment ÖNEL, Taylan AKSU. The Effect of Thyme (<i>Thymbra spicata L. var. spicata</i>) Essential Oil on the Antioxidant Potential and Meat Quality of Japanese Quail Fed in Various Stocking Densities (<i>Zahter (Thymbra Spicata L. var. Spicata) Uçucu Yağının Farklı Yerleşim Sıklığında Beslenen Japon Bildircinlarında Antioksidan Potansiyel ve Et Kalite Parametrelerine Etkisi</i>).	129-136
▶ Remzi Orkun AKGÜN, Okan EKİM, Caner BAKICI, Burcu İNSAL, Muharrem AYVALI, İsmail Önder ORHAN, Çağdaş OTO, Alexander ATANASOFF. Preparation of Internal Genital Organs of Adult Cows by S10B Silicone Plastination Method (<i>S10B Silikon Plastinasyon Yöntemi ile Erişkin İneklerin İç Genital Organlarının Hazırlanması</i>).	137-141
▶ Nazlı TÜRKMEN, Ebru ŞENEL, Ceren AKAL. Effect of Using Odourless Fish Oil on Some Physical, Chemical and Sensorial Properties of Blackberry Fruit Yoghurt (<i>Kokusuz Balık Yağı Kullanımının Böğürtlenli Yoğurdun Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi</i>).	142-150
▶ Tülin GÜVEN GÖKMEN, Elçin GÜNAYDIN, Nevin TURUT, Bünyamin AKIN, Özgür KOÇ, Armağan Erdem ÜTÜK. A Serosurvey on Some Canine Vector-borne Zoonoses (<i>Anaplasma spp., Ehrlichia spp., Borrelia burgdorferi, Dirofilaria immitis and Leishmania spp.</i>) in Osmaniye (<i>Osmaniye'de Bazı Köpek Vektör Kaynaklı Zoonozlar (Anaplasma spp., Ehrlichia spp. Borrelia burgdorferi, Dirofilaria immitis ve Leishmania spp.) Üzerine Serolojik Bir Araştırma</i>).	151-158
▶ Hüseyin GÖKÇEN Mustafa ATASEVER. Erzurum Bölgesindeki İçme Sularının Kalitesinin Belirlenmesi (<i>Determination of Drinking Water's Quality Around Erzurum Region</i>).	159-169
▶ Gökşad Cemil KOTAN, Mustafa ÖZKARACA. Erzurum Yöresi Sığırlarında Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)'un Varlığının İmmunohistokimyasal Yöntemle Araştırılması (<i>Immunohistochemical Investigation of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in Cattle in Erzurum Region</i>).	170-175
▶ Caner BAYRAM, Derviş ÖZDEMİR. Karatavukta (<i>Turdus merula</i>) Viscerocranium'un Makro-Anatomik Olarak İncelenmesi (<i>Macro-Anatomical Examination of the Viscerocranium in the Blackbird (Turdus merula)</i>).	176-184
▶ Kamile BİÇEK, Ayşe KARAKUŞ, Mustafa Serdar DEĞER. Van ilinde <i>Coenurus cerebralis</i> 'in Yaygınlığı ve Coenurosis'in Teşhisinde Yardımcı Bir Parametre Olarak Enolaz (NSE) Enziminin Önemi (<i>Prevalence of Coenurus Cerebralis in Van, Turkey and the Significance of the Enolase (NSE) Enzyme as a Supporting Parameter in the Diagnosis of Coenurosis</i>).	185-192
▶ Zeynep AKIN, Pınar Peker AKALIN, Filiz KAZAK, Yaşar ERGÜN, Nuri BAŞPINAR. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz, Glutasyon Peroksidaz, Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat ve Glutasyon ile Süt Kalite Parametreleri Arasındaki İlişkiler (<i>The relationships of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, Glutathione Peroxidase, Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate and Glutathione with Milk Quality Parameters</i>).	193-200
▶ Deniz ALIÇ URAL, Kerem URAL, Hasan ERDOĞAN, Songül ERDOĞAN, Serdar PAŞA, Mehmet GÜLTEKİN, Elif TÜRK, Serhan AYDIN. Sınırlı Fleckvieh Irkı Bir Sığır Popülasyonunda Saha Şartlarına Yönelik Dışkı Skorlaması (<i>Fecal Scoring Protocol on Field Conditions in the Limited Fleckvieh Breed Population</i>).	201-208

Derlemeler / Reviews

▶ Pınar CİHAN, Erhan GÖKÇE, Oya KALIPSIZ. A Review on Determination of Computer Aid Diagnosis and/or Risk Factors Using Data Mining Methods in Veterinary Field (<i>Veterinerlik Alanında Veri Madenciliği Yöntemleri Kullanılarak Bilgisayar Destekli Tanı ve/veya Risk Faktörlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir İnceleme</i>).	209-220
▶ Ece ÇERÇİ, Hatice ERDOST. Kök Hücre (<i>Stem Cell</i>).	221-228
▶ Emre YILMAZ, Mehmet GÜL. Atlarda Glisemik İndeks ve İnsülin Direnci (<i>Glysemic Index and Insulin Resistance in Horses</i>).	228-237



A Macroanatomic and Morphometric Study on Ossicula Auditus in Male Hemshin Sheep*

Semine DALGA^{1a}✉, Kadir ASLAN^{1b}

1. Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Kars, TURKEY.
ORCID: 0000-0001-7227-2513^a, 0000-0002-7617-0175^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
19.09.2018	04.04.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Dalga S, Aslan K: A Macroanatomic and Morphometric Study on Ossicula Auditus in Male Hemshin Sheep. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 114-118, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.461521

Abstract: This study was carried out to determine ossicula auditus morphometry and macro anatomy of male Hemshin sheep. For this purpose ten adult male sheep were used. The sheep heads were obtained from the local slaughterhouse of Ardanuç district of Artvin province. First, the skulls were cleaned from the muscle and skin. Then, the external ear canal (Meatus acusticus externus) was followed ear ossicles located in the cavum tympani was removed by dissecting. Measurements were taken from 14 different points on the ossicula auditus. In male Hemshin sheep ossicula auditus consists of three bones, os malleus, os incus and os stapes, os lenticulare was found as a processus lenticularis on os incus. The presence of processus lateralis, processus rostralis, and processus muscularis was observed on os malleus. The length of os malleus, os incus and os stapes were measured as right/left $7.00 \pm 0.76 / 6.58 \pm 0.085$ mm, $2.89 \pm 0.3 / 2.83 \pm 0.68$ mm and $1.76 \pm 0.13 / 1.88 \pm 0.17$ mm respectively. The width of the corpus incudis was measured as right/left $2.39 \pm 0.40, 2.16 \pm 0.40$ mm, and the width of the base stapedis was $1.25 \pm 0.17 / 1.28 \pm 0.15$ mm, respectively. Statistical analysis showed no significant difference between right and left ossicula auditus ($P > 0.05$). As a result, a macro anatomical and morphometric study was performed on ossicula auditus of male Hemshin sheep which is not included in the literature. The findings obtained from the study were included in the literature.

Keywords: Anatomy, Ear Ossicles, Sheep.

Erkek Hemşin Koyununda Ossicula Auditus Üzerinde Makroanatomik ve Morfometrik Bir Çalışma

Öz: Bu çalışma, erkek Hemşin koyunlarının ossicula auditus morfometrisini ve makro anatomisini belirlemek için yapıldı. Bu amaçla 10 adet yetişkin erkek Hemşin koyunu başı kullanıldı. Koyun başları Artvin ili Ardanuç ilçesi belediye mezbahanesinden temin edildi. Çalışma için ilk önce kafatasları deri ve kaba etlerinden temizlendi. Daha sonra dış kulak yolu (meatus acusticus externus) takip edilerek cavum tympani de yer alan kulak kemikçikleri diseksiyonla çıkartıldı. Kulak kemikçikleri üzerinde toplamda 14 farklı nokta arasında ölçümler yapıldı. Erkek Hemşin koyununda ossicula auditus'un malleus, incus ve stapes olmak üzere üç kemikten oluştuğu görüldü. Os lenticulare'nin incus üzerinde processus lenticularis şeklinde bulunduğu gözlemlendi. Malleus üzerinde procesus lateralis, procesus rostralis ve procesus muscularis'in varlığı görüldü. Incus'un gövdesinden crus longum ve crus breve'nin ayrıldığı görüldü. Malleus uzunluğu sırasıyla sağ/sol $7.00 \pm 0.76 / 6.58 \pm 0.085$ mm, incus uzunluğu $2.89 \pm 0.3 / 2.83 \pm 0.68$ mm, stapes uzunluğu $1.76 \pm 0.13 / 1.88 \pm 0.17$ mm olarak analiz edildi. Corpus incudis genişliği sırasıyla sağ/ sol $2.39 \pm 0.40, 2.16 \pm 0.40$ mm ve basis stapedis'in genişliği $1.25 \pm 0.17, 1.28 \pm 0.15$ mm olarak analiz edildi. İstatistiksel analiz sonucunda sağ ve sol kulak kemikçikleri arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$). Sonuç olarak literatürde yer edinmeyen erkek Hemşin koyunu ossicula auditus'u üzerinde makro anatomik ve morfometrik bir çalışma yapıldı. Çalışma sonucu elde edilen bulgular literatür'e kazandırıldı.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, Koyun, Kulak Kemikçikleri.

✉ Semine Dalga

Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Kars, TURKEY.
e-mail: sdalga91@gmail.com

*This Investigation, Presented As Poster 1st International Veterinary Congress Of Turkey And Xth National Veterinary Anatomy Congress 13-16th September 2017-Sandıklı /Turkey

INTRODUCTION

Hemshin sheep have been adapting rainy climates in the Eastern Black Sea region. Hemshin sheep are widely grown for meat and milk in Artvin and Rize. It is mostly with no horns. (1). Ossicula auditus, known as os malleus, os incus and os stapes, are found in the cavum tympani. These bones are responsible for transferring vibrations from membrane tympani to the auris interna (2). The anatomical structure of ossicula auditus in different animal species are available in the literature (3-8). Although various bones of some animals have been investigated for morphometry (metapodium, cranium, mandible etc.) (9-15), no studies on the morphometric and macroanatomic features of Hemshin sheep ossicula auditus were found in the literature review.

Morphometry is a research method that examines the shape differences of an organism and its relation to other variables. This method is sometimes used in the development, sometimes in the analysis of the effects of any treatment. In addition, morphometry permits statistical analysis of numerical or graphical lay outs of specific widths, lengths or angles between two points (16). Morphological and morphometric studies reflect the contribution of environmental components and genetics to the developmental stage of the organism (17).

This study was aimed to the determine morphometric values and macroanatomical structures of ossicula auditus of male Hemshin sheep.

MATERIALS and METHODS

In this study, 10 adult male Hemshin sheep heads were used. The ethics committee of the local ethics committee of the Kafkas University dated 25.02.2016 and number 2016/027 was approved to use the sheep as material for the study. Firstly, pars petrosa of ossis temporalis was distinguished from skulls. Then, following meatus acusticus externus,

and ossicula auditus located in the cavum tympani was extracted with the dissection. The mean and standard deviation values of the morphometric parameters from the ossicula auditus were analyzed by SPSS (20.0 version) program and the right and left ossicula auditus were compared with the "Independent samples T" test. Pictures of ossicula auditus were taken with Canon 16X camera. Morphometric parameters of ossicula auditus were obtained from 14 different points (18). The research was based on the terms Nomina Anatomica Veterinaria 2012 (19).

RESULTS

The findings are shown in Table 1, Figure 1 and Figure 2.

Table 1. Morphometric values of ossicula auditus in Hemshin sheep (Mean \pm standard deviation).

Tablo 1. Hemşin koyununda ossicula auditus'a ait morfometrik veriler (Ortalama \pm standart sapma).

Parameter	Right (Mean \pm standart deviation)	Left (Mean \pm standart deviation)
IL	2.89 \pm 0.31	2.83 \pm 0.68
CBL	2.82 \pm 0.45	2.63 \pm 0.29
CLL	3.89 \pm 0.47	3.44 \pm 0.49
CIH	2.21 \pm 0.28	2.02 \pm 0.38
CIW	2.39 \pm 0.40	2.16 \pm 0.40
ML	7.00 \pm 0.76	6.58 \pm 0.85
CML	1.67 \pm 0.17	1.72 \pm 0.33
CMW	1.61 \pm 0.40	1.06 \pm 0.20
MML	5.24 \pm 0.47	5.15 \pm 0.61
SL	1.76 \pm 0.13	1.88 \pm 0.17
CSW	0.55 \pm 0.94	0.53 \pm 0.70
BSW	1.25 \pm 0.17	1.28 \pm 0.15
CPL	1.45 \pm 0.23	1.53 \pm 0.23
CAL	1.49 \pm 0.22	1.58 \pm 0.21

IL: Length of incus, CLL: Length of crus longum, CBL: Length of crus breve, CIW: Length of corpus incudis, CIH: Height of corpus incudis, ML: Length of malleus, CMW: Width of corpus mallei, CML: Length of corpus mallei, MML: Length of manubrium mallei, SL: Length of stapes, BSW: Width of basis stapedis, CSW: Width of caput stapedis, CAL: Length of crus anterior, CPL: Length of crus posterior.

In the male Hemshin sheep, ossicula auditus was consisted of os malleus, os incus and os stapes, and os malleus was the largest of these 3 bones. The

presence of processus lateralis, processus rostralis, and processus muscularis was observed on os malleus. The length of os malleus, os incus, os stapes were measured as right/left $7.00 \pm 0.76 / 6.58 \pm 0.085$ mm, $2.89 \pm 0.3 / 2.83 \pm 0.68$ mm, $1.76 \pm 0.13 / 1.88 \pm 0.17$ mm respectively. Despite the fact that macroanatomical findings, there was a numerical difference between the right and left ossicula auditus, but there was no statistically significant difference between the right and left ossicula auditus ($P > 0.05$).

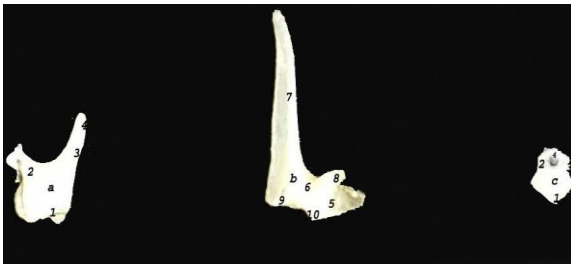


Figure 1. The ossicula auditus in male Hemshin sheep.

Şekil 1. Erkek Hemşin koyununda kulak kemikçikleri. a. Os incus, a-1. Corpus incudis, a-2. Crus breve, a-3. Crus longum, a-4. Proc. Lenticularis b. Os malleus b-5. Caput mallei, b-6. Collum mallei, b-7. Manubrium mallei, b-8. Proc. rostralis, b-9. Proc. muscularis, b-10. Proc. lateralis. c. Os stapes c-1. Basis stapedis, c-2. Crus caudalis, c-3. Crus rostralis, c-4. Caput stapedis.

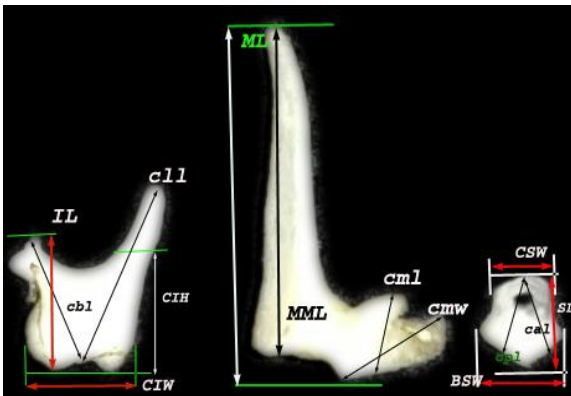


Figure 2. Morphometric measurements of ossicula auditus in male Hemshin sheep.

Şekil 2. Erkek Hemşin koyununda kulak kemikçiklerinin morfometrik ölçümleri. IL: Length of incus, CLL: Length of crus longum, CBL: Length of crus breve, CIW: Length of corpus incudis, CIH: Height of corpus incudis,

ML: Length of malleus, CMW: Width of corpus mallei, CML: Length of corpus mallei, MML: Length of manubrium mallei,

SL: Length of stapes, BSW: Width of basis stapedis, CSW: Width of caput stapedis, CAL: Length of crus anterior, CPL: Length of crus posterior.

DISCUSSION and CONCLUSION

Morphometric studies have been reported in the literature on ossicula auditus of various animals (14,18,20,21). In this study, ossicula auditus of male Hemshin sheep were examined in terms of direction, macroanatomic and morphometric.

The ossicle chain in Hemshin sheep has a similar topography in respect to the same chain in the ruminants, horse, donkey and New Zealand rabbit.

A study on a donkey ossicula auditus has been reported processus lateralis and processus muscularis were not evident on the malleus (21). Similarly, in the study of the ossicula auditus on Malakan horses was reported that processus lateralis and processus muscularis is not available on malleus (24). But in other studies that about ruminants, mouse and domestic animals of ossicula auditus, they were reported 3 process on os malleus its processus rostralis, processus muscularis and processus lateralis (3,7,23). In our study on male Hemshin sheep of ossicula auditus, we found the processus rostralis, processus lateralis and processus muscularis on malleus. This finding is similar to the findings reported in the literature (3,7,23)

It was reported that the os stapes was found to be triangles (2,22). In another literature, they were reported stapes was found to be rectangular (3). It is thought that the os stapes in Male Hemshin sheep look more like a rectangular pentagon whose side edges are not completely clear, that is, rather than rectangular.

Previous studies have reported that gender has no statistically significant effect on ossicula auditus morphometry (18,20,21). Considering the results of previous studies, it was not examined whether the gender factor was effective or not on ossicula auditus in Hemshin sheep.

In the literature (18), it was reported that the right ossicula auditus was significantly larger than the left ossicula auditus in terms of morphometric values in the New Zealand rabbit. Another literature (14) was reported that some morphometric parameters (IL, CBL, SL, BSW, CPL) of the right and left sides of incus and stapes were statistically different ($P < 0.05$). But in our study there were no statistically significant difference between the right and left ossicula auditus.

As a result, although there are some studies about Hemshin sheep in the literature but there is no macroanatomical and morphometrical study was performed on the ossicula auditus of Hemshin sheep (15,25,26). With the help of this study data, the lack of information in the literature was eliminated.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Akçapınar H., 2000. Sheep Breeding. İsmat typography 2. Edition Ankara.
2. König HE., Liebich HG., 2007. Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Color Atlas. 3rd ed., Schattauer Co, Stuttgart, Germany.
3. Botti M., Secci F., Ragionieri L., Dessole AA., Acone F., 2006. Auditory ossicles in the ruminants: Comparative morphological analysis with the analogues formations of horse. Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma, 26, 91-96.
4. Hebel R., Stromberg MW., 1986. Anatomy and Embryology of Laboratory Rat, 1st ed. Biomed and Verlag, New York.
5. Huang GT., Rosowski JJ., Flandermeier DT., Lynch TJ., Peake WT., 1996. The middle ear of a lion: Comparison of the structure and function to domestic cat. J. Acoust. Soc. Am., 101, 1532-1549.
6. Kristensen F., Jacobsen JOG., Eriksen T., 1996. Otology in Cats and Dogs, 1st edition. LEO, Stockholm.
7. Masuda Y., Honjo H., Naito M., Ogura Y., 1986. Normal development of the middle ear in the mouse: a light microscopic study of serial sections. Acta Medica 40, 201-207.
8. Miller ME., 1964. Anatomy of the Dog, 1st edn. W. B. And Saunders, Philadelphia.
9. Onar V., Mutuş R., Kahvecioğlu KO., 1997. Morphometric analysis of the foramen magnum in German Shepherd dogs (Alsations). Ann Anat, 179, 563-568.
10. Bozkurt EU., Düzler A., Özgel Ö., Kürtül İ., 2002. Morphometric and morphological features of the bones of the wing in Bald Ibis. Indian Vet J, 79, 470-476.
11. Onar V., Belli O., Owen PR., 2005. Morphometric examination of Red Fox (*Vulpes vulpes*) from the Van-Yoncatepe necropolis in Eastern Anatolia. Int J Morphol, 23, 253-260.
12. Özcan S., Aksoy G., Kürtül İ., Aslan K., Özüdoğru Z., 2010. A comparative morphometric study on the skull of the Tuj and Morkaraman Sheep. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 16, 111-114.
13. Demiraslan Y., Gülbaz F., Özcan S., Dayan MO., Akbulut Y., 2014. Morphometric analysis of the mandible of Tuj and Morkaraman sheep. J Vet Anat, 7, 75-86.
14. Gurbuz İ., Demiraslan Y., Aslan K., 2015. Morphometric analysis of the skull of New Zealand Rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.) according to gender. AJAVS, 1, 27-32.
15. Dalga S., Aslan K., 2017. The morphometric study on Hemshin sheep mandible. Atatürk Üniv Vet Bil Derg, 12, 22-27.
16. Rohlf FJ., Marcus LF., 1993. A revolution in morphometrics Trendsecol. Evol, 8, 129-132.
17. Wehausen JD., Ramey RR., 2000. Cranial morphometric and evolutionary relations in the northern range of *Ovis canadensis*. J Mammal, 81, 145-161.
18. Kürtül İ., Demirkan AÇ., Bozkurt EU., Dursun N., 2003. Detailed subgross morphometric study on the auditory ossicles of the New Zealand Rabbit.

- Anat Histol Embryol. 32, 249-252.
19. Nomina Anatomica Veterinaria 2012. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature: General Assembly of the World Association of Veterinary Anatomists., 5th ed, Gent, Published by the Editorial Committee Hannover (Germany), Columbia, MO (U.S.A.), Ghent (Belgium), Sapporo (Japan).
 20. Mohammadpour AA., 2011. Morphology and morphometrical study of hamster middle ear bones. *IJVR*, 12, 121-126.
 21. Demiraslan Y., Gurbuz I., Aslan K., 2015. A Macroanatomic and morphometric study on Auditory ossicles in Donkey (*Equus asinus*). *İstanbul Üniv., Vet. Fak. Derg*, 41(2), 151-154.
 22. Getty R., 1975. Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals. Volume 1, fifth edition, WB, Saunders Company, Philadelphia, USA.
 23. Nickel R., Schummer A., Seiferle E., 1986. The Anatomy of the Domestic Animals Volume 1. Verlag Paul Parey, Berlin, Germany.
 24. Gurbuz İ., Aykut M., Dayan MO., Aslan K., 2016. Morphometric analysis of ossicula auditus in Malakan horses. *Eurasian J Vet Sci*, 32, 204-207.
 25. Gurbuz İ., Demiraslan Y., Kırbaş G., Aslan K., 2018. The morphometric and stereologic investigation of metapodium in male Hemshin sheep. *MAKÜ Sağ Bil Enst Derg* 6, 1-14.
 26. Gurbuz İ., Demiraslan Y., Sarı EK., Aslan K., 2017. Morphologic and morphometric structure and arterial vascularization of glandula interdigitalis in Male Hemshin sheep. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23, 242-246.



The Effect of Lycopene Application on the Antioxidant Activity in Liver and Kidney Tissues of Diabetic Rats*

Sevim ÇİFTÇİ YEGİN^{1a}, Fatmagül YUR^{2b}

1. Giresun University, Health Service Vocational School of Higher Education, Giresun, TURKEY.

2. Mugla Sıtkı Kocman University, Fethiye Faculty of Health Science, Department of Nutrition and Dietetics, Mugla, TURKEY.

ORCID: 0000-0003-3950-4399^a, 0000-0002-5536-9169^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
22.11.2018	13.03.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Çiftçi Yeğin S, Yur F: The Effect of Lycopene Application on the Antioxidant Activity in Liver and Kidney Tissues of Diabetic Rats. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 119-128, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.486629

Abstract: The scope of the present study was to determine the effect of lycopene on the activity of malondialdehyde (MDA), glutathione, vitamin A, vitamin E and catalase in liver and kidney tissues of diabetic rats. Wistar albino male rats were randomly allocated into four groups: control, diabetic, diabetic+lycopene and lycopene group (n=7). Rats in the respective groups were treated with intraperitoneal streptozotocin (45 mg/kg) to induce diabetes. Rats in the group lycopene and diabetic+lycopene were given orally 1 ml lycopene every day for 1 month. Catalase levels in the liver tissues of lycopene group was significantly lower than other groups (P<0.05). A significant decrease was observed at Vitamin A levels in the kidney tissues of the groups diabetic, diabetic+lycopene and lycopene compared to the control group (P<0.05). Other non-significant differences between the groups except catalase levels in liver tissue and vitamin A levels in kidney tissues may be result of a short period of diabetes mellitus. The results of the present study supported the positive correlation among metabolic control and oxidative stress in diabetes mellitus.

Keywords: Antioxidants, Experimental Diabetes Mellitus, Lycopene.

Diyabetik Ratların Karaciğer ve Böbrek Dokularındaki Antioksidan Aktivite Üzerine Likopen Uygulamasının Etkileri

Öz: Bu çalışmanın amacı, diyabetik ratlarda likopen uygulamasının karaciğer ve böbrek dokusundaki malondialdehit, glutatyon, vitamin A, vitamin E ve katalaz üzerine etkilerini araştırmaktır. Çalışmada kullanılan Wistar cinsi albino erkek ratlar, içlerinden rastgele seçilerek kontrol grubu, diyabet grubu, likopen grubu ve diyabet+likopen grubu olmak üzere 4 farklı gruba ayrıldı. Her grupta 7 adet rat bulunmaktadır. Deneysel diyabet oluşturmak için diyabet grubu ve diyabet+likopen grubundaki ratlara intraperitoneal yoldan streptozotocin (45 mg/kg) uygulandı. Diyabet+likopen grubu ile likopen grubundaki ratlara 1 ay boyunca her gün oral yoldan 1 ml likopen (ayçiçeği yağında eritildi) uygulandı. Likopen grubunun karaciğer dokularındaki katalaz düzeyi diğer gruplardan önemli derecede düşük bulundu (P<0.05). Diyabet, diyabet+likopen ve likopen gruplarının böbrek dokularındaki vitamin A düzeyleri diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli bir azalış göstermiştir (P<0.05). Böbrek dokularındaki vitamin A düzeyleri ve karaciğer dokularındaki katalaz düzeyleri hariç diğer gruplar arasındaki istatistiksel olarak önemli olmayan farklılıkların olması Diabetes Mellitusun kısa periyodunun sonuçları olabileceği kanaatindeyiz. Çalışmanın sonucu olarak, yaptığımız araştırma Diabetes Mellitusta oksidatif stres ile metabolik kontrol arasındaki pozitif korelasyonu destekler niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, Deneysel Diabetes Mellitus, Likopen.

✉ Sevim Çiftçi Yeğin

Giresun University, Health Service Vocational School of Higher Education, Giresun, TURKEY.

e-mail: sevimbio@gmail.com

* The publication is derived from the PhD thesis.

INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a lifelong chronic metabolic disease with mortality, morbidity and economic burden. The deficiency or abnormality of insulin results in failures of target tissues at carbohydrate, lipid and protein metabolisms. Polyuria, polydipsia, polyphagia, weight loss, blurred vision and tendency to infections are important clinical findings of hyperglycemia. The risk for the development of long-term complication gets high, while the disease progresses (1).

Glutathione is a tripeptide, which has thiol group functions as a substrate for many enzymes like transferase and peroxidase, thus it prevents or decreases the destructive effects of free radicals. Thiol groups are cellular antioxidants that catch free radicals via enzymatic reactions. Glutathione is a water-soluble thiol and exists in many cells at high concentration protecting membranes against lipid peroxidation. This protection occurs enzymatically (2). Glutathione peroxidase (GSH-Px) needs selenium minerals for its activity and it converts the reduced form of GSH to the oxidized form as glutathione disulfide (GSSG). Glutathione reacts with very harmful oxidants like single oxygen (O_2), superoxide anion ($\cdot O_2^-$), hydroxi radicals ($\cdot OH$) without enzyme catalysis (3).

Vitamin E prevents oxidation of unsaturated fatty acids in cellular membranes and also prevents membrane degradation. Unsaturated fatty acids in membrane phospholipids are oxidized by hydrogen peroxides which are formed by flavoprotein oxidase enzyme (4).

Vitamin A exists in vegetables in the form of β -carotene as a provitamin, which is a yellow pigment, and it consists of two retinal molecules linked with aldehyde points. Vitamin A is stored in lipocytes of liver in the form of ester, possibly as a lipoprotein complex. β -carotene is an antioxidant and it can restrain peroxy free radicals in tissues at low oxygen partial pressure. The antioxidant effect of β -carotene is dependent on its ability to get stabilized the organic peroxide free radicals in stable conjugated

alkyl structures. β -carotene is effective in lower oxygen concentrations, so that it completes the antioxidant features of vitamin E, which is effective in higher oxygen concentrations (5).

Malondialdehyde (MDA) is final products of lipid peroxidation. Free radicals with their autocatalytic characteristics, cause lipid oxidation and membrane damage (6). Lipid peroxidation leads to a harmful chain reaction. It directly damages membrane structure and indirectly damages other cell components because of reactive aldehydes production. It results in oxidative cellular membrane destruction and serious tissue damage. Peroxidation induced MDA causes cross linking of membrane components and their polymerization. In turn, it changes the intrinsic membrane property causing ion transport, deformation, enzyme activity and aggregation of cell surface components. Antioxidant defense systems have a great importance in preventing tissue damage connected with oxidation (7).

Catalase (CAT) is a hemoprotein consisting four heme groups and exists in all cell types at different concentrations. It catalyzes hydrogen peroxide to molecular oxygen and water. It is mostly localized in peroxisomes. CAT's reducing activity is observed on small molecules like hydrogen peroxide, methyl and ethyl hydro peroxides. It has no effect on big molecule like lipid hydro peroxides. CAT can be found in blood, bone marrow, mucous membranes, liver and kidney at high amounts (8). Antioxidant enzymes like superoxide dismutase (SOD), catalase, GSH-Px, and neutralize reactive oxygen species (ROS) (9). Carotenoids and antioxidant vitamins scavenge effectively ROS and regulate the activities of antioxidant enzymes (10). Carotenoids behavior as strong antioxidants that protect cell membranes from lipid peroxidation and repair free radicals as well as other reactive molecules (11). Carotenes (α -carotene, lycopene, β -carotene) and xanthophylls (zeaxanthin, lutein) regard the class of carotenoids. Between the carotenoids, lycopene is an effective

free radical scavenger and has the highest antioxidant activity (12).

Lycopene is plenty in red fruits like tomato and water melon. The protective effects of lycopene against many different types of cancer inclusive prostate, skin cancer and breast have been reported in many studies (13,14). These anti-cancer effects seem to be generated by the antioxidant properties of lycopene. Lycopene helps to preserve cells from free radical attack via scavenging of ROS and detoxicate lipid peroxide (15).

In the present study, we have studied the renal and hepatic changes excited by acute exposure to STZ (streptozotocin) in rats, furthermore antioxidant enzymes, vitamin A, E levels were controlled. We evaluated also the possible preventive effect of lycopene in rats.

MATERIALS and METHODS

Experimental Procedures

The ethics committee of the Giresun University (no 2013/5) approved the study.

In the present study, twenty-eight Wistar-albino male rats with weight among 250 – 300 g were used. Rats were provided by the Experimental Research Laboratory of Medical Faculty, University of Yuzuncu Yil. Study rats were arbitrarily separated into four groups with seven rats in groups: control group (C), diabetic rats not treated with lycopene (D), diabetic rats treated with lycopene (DL) and lycopene cleansed rat group (L).

Single dose of 45 mg/kg STZ (Sigma, USA) solved in citrate buffer with pH 4.5 was intraperitoneally injected to rats to induce diabetes in D and DL groups (16). The exact, same amount of physiological saline solution was injected using the same method to the control group. Blood samples were collected from rat tail veins 72 hours after the injection of STZ. Blood glucose meter (Plus Med Accuro Biosensor Blood) measurement device and its blood strips were used for the measurement of blood glucose levels. Rats with blood glucose levels above 270 mg/dl were admitted as patients. 1 ml/day lycopene (10% FS;

Redivivo TM; Code 7803; DSM Inc., Istanbul, Turkey) was solved in sunflower oil and the preparation was administered orally to rats in respective groups every day (17).

For four weeks, rats were hold in cages at room temperature ($22\pm 2^\circ\text{C}$) and for 12 hours in dark and light periods, also food and fresh water were provided at all times.

Biochemical Analysis

GSH Assay: In this method, 5 ml sulphosalicylic acid was added to 0.5 g of tissue, which was homogenized afterwards. The sample was centrifuged for 15 min at 4500 g. After removing 1 ml of supernatant, 5 ml phosphate buffer was added to the sample. The sample was brooded for 10 minutes at 60°C and then it was cooled down to room temperature, finally 1 ml 5.5' Dithiobis-2-Nitrobenzoik Acid (DTNB) was added to the sample. Sample was tested at 412 nm towards blank (distilled water) and the calculation was performed (18).

Vitamin E Assay: In this method, 1 ml ethanol was added to 0.5 g of tissue and the sample was homogenized. After centrifugation of the sample, 1 ml of supernatant was distanted from and blended with 1 ml of xylene. This sample was strongly rinsed for 30 seconds, afterwards it was centrifuged for 5 min at 2500 g. 1 ml of supernatant was taken and mixed with 0.5 ml of 2,4,6-Tri(2-Pyridyl)-s-Triazine (TPTZ). First determination was performed at 410 nm, afterwards 0.1 ml of FeCl_3 was added to the sample and finally second determination was performed at 600 nm (19).

Vitamin A Assay: In this method, 0.5 g of tissue and 1 ml ethanol was blended and homogenized. After the centrifugation of the sample, 1 ml of supernatant was distanted from and mixed 1 ml ethanol and 3 ml hexane. The sample was stirred for 10 min followed by the centrifugation for 10 min at 2000 g. Finally, sample was tested at 453 nm and 325 nm (20).

MDA Assay: In this method, 0.5 g of tissue was blended with 1,5 ml of cold Tris-HCl buffer and

homogenized for 5 minutes. It was centrifuged for 30 min at 9500 g and 200 µl of supernatant was removed from the sample. This sample was blended with 0,8 ml phosphate buffer, 0,025 ml BHT and 0,5 ml 30% TCA and stirred. The sample was kept at -20° C for 2 hours and it was centrifuged for 15 min at 2000 g. 1 ml supernatant was taken from the sample and mixed with 75 µl 0,1 M Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and 250 µl Tiobarbutiric acid (TBA). This sample was kept at 90°C for 15 min. When it cooled down to room temperature, the sample was tested at 532 nm (21). In this assay, the level of MDA was determined via spectrophotometric measurement. For this reason, the color created by the reaction of TBA with MDA. The level of MDA is expressed as nmol/gram protein by using standard calibration curve ($R^2=0.9974$).

Catalase Assay: A commercial test kit from Cayman trademark was used for the catalase assay. Tissue homogenate: 1 gr tissue was homogenized in 5 ml buffer and centrifuged for 15 min at 10.000 g at 4°C. Supernatant was taken from the sample.

Standard preparation: In this study, 7 tubes were labeled from A to G. 100 µl sample buffer was placed into tube A, 990 µl sample buffer and 10 µl formaldehyde was placed into tube B, 970 µl sample buffer and 30 µl formaldehyde was placed into tube C, 940 µl sample buffer and 60 µl formaldehyde was placed into tube D, 910 µl sample buffer and 90 µl formaldehyde was placed into tube E, 880 µl sample buffer and 120 µl formaldehyde was placed into tube

F, 850 µl sample buffer and 150 µl formaldehyde was placed into tube G.

In measurement method, 100 µl diluted assay buffer, 30 µl methanol and 20 µl standard solution were added twice into standard wells of plate. 100 µl assay buffer, 30 µl methanol and 20 µl diluted CAT were added into positive control wells. 100 µl assay buffer, 30 µl methanol and 20 µl sample were added into sample wells. All wells on the plate were filled with 20 µl of H₂O₂. Plates were closed on and placed on the shaker to incubate for 20 min. Finally, 30 µl KOH and 30 µl Purpald (chromogen) were added into all wells and the reaction was completed. Plates were again closed on and were stirred and brooded for 10 min at room temperature. All wells were filled with 10 µl of KIO₄ and they were incubated for 5 min at room temperature. Samples absorbance were determined at 540 nm (22).

Statistical Analysis

All data were statistically analyzed using ANOVA. DUNCAN multi comparison test was applied to determine any significant differences. Correlations between the tested biochemical parameters were calculated. MEANS, CORR and GLM procedures of SAS software package were used to evaluate the data.

RESULTS

The obtained results were summarized in Table 1 and 2.

Table 1. Effects of lycopene on hepatic MDA, GSH, vitamin A, vitamin E levels and catalase activities in control group (C), diabetic rats not given lycopene (D), diabetic rats given lycopene (DL) and lycopene given rats group (L).

Tablo 1. Kontrol grup (K), diyabetli olup likopen verilmeyen grup (D), diyabetli olup likopen verilen grup (DL) ve likopen gruplarında (L) karaciğer MDA, GSH, vitamin A, vitamin E düzeyleri ve katalaz aktivitesi üzerine likopenin etkileri.

	n	Liver Control Group	Liver Diabetes Group	Liver Diabetes-Lycopene Group	Liver Lycopene Group
MDA (nmol/g protein)	7	18.20±1.66 ^a	20.14±4.81 ^a	13.36±2.11 ^b	15.19±0.89 ^a
GSH (mmol/g)	7	0.046±0.001 ^a	0.047±0.001 ^a	0.047±0.001 ^a	0.048±0.001 ^a
Vitamin A (µg/dl)	7	255.56±36.93 ^a	287.96±60.68 ^a	424.11±13.93 ^b	387.07±33.01 ^b
Vitamin E (mg/dl)	7	0.16±0.01 ^a	0.23±0.07 ^b	0.29±0.04 ^b	0.29±0.06 ^b
Catalase (U/ml)	7	0.83±0.03 ^a	0.91±0.03 ^a	0.86±0.04 ^a	0.57±0.07 ^b

MDA: Malondialdehyde, GSH: Glutathione

Results were presented as median±standard error. [a-b: difference between groups assigned different letters in the same line is statistically significant (P<0.05)].

Table 2. Effects of lycopene on kidney MDA, GSH, vitamin A, vitamin E levels and catalase activities in control group (C), diabetic rats not given lycopene (D), diabetic rats given lycopene (DL) and lycopene given rats group (L).

Tablo 2. Kontrol grup (K), diyabetli olup likopen verilmeyen grup (D), diyabetli olup likopen verilen grup (DL) ve likopen gruplarında (L) böbrek MDA, GSH, vitamin A, vitamin E düzeyleri ve katalaz aktivitesi üzerine likopenin etkileri.

	n	Kidney Control Group	Kidney Diabetes Group	Kidney Diabetes-Lycopene Group	Kidney Lycopene Group
MDA (nmol/g protein)	7	13.22±3.42 ^a	12.80±1.97 ^a	10.94±1.90 ^a	8.86±0.61 ^b
GSH (mmol/g)	7	0.047±0.002 ^a	0.042±0.003 ^a	0.046±0.002 ^a	0.046±0.001 ^a
Vitamin A (µg/dl)	7	206.85±50.11 ^a	128.72±12.92 ^b	109.04±6.37 ^b	138.75±18.63 ^b
Vitamin E (mg/dl)	7	0.24±0.04 ^a	0.35±0.08 ^b	0.42±0.09 ^b	0.23±0.01 ^a
Catalase (U/ml)	7	0.74±0.07 ^a	0.81±0.08 ^b	0.73±0.09 ^a	0.84±0.05 ^b

MDA: Malondialdehyde, GSH: Glutathione

Results were presented as median±standard error. [a-b: difference between groups assigned different letters in the same line is statistically significant (P<0.05)].

MDA levels in the liver of diabetic-lycopene group were significantly lower compared to the control group. No significant change was observed in GSH levels between groups. Vitamin A levels in the liver of diabetes-lycopene and lycopene groups were significantly increased compared to the control group. Liver vitamin E levels in all treatment groups were observed to be significantly higher than untreated control group. It was observed that Catalase levels in the liver of lycopene group was significantly decreased (Table 1).

Kidney MDA levels in diabetes+lycopene group and lycopene group were observed lower than other groups, but this decrease was not statistically significant in diabetes+lycopen group. MDA levels was decreased notably (P<0.05) in the kidney tissue of lycopene group in comparison with the control group and diabetes group.

No significant difference was observed between the groups regarding the glutathione levels in the tissues of kidney and liver in this study. Vitamin A level in the kidney tissue was higher in the control group in proportion to other groups and this difference was statistically significant. Kidney vitamin A level in all therapy group was notably lower than control group. Vitamin E levels in the kidney tissues of diabetic group and diabetic+lycopene group were notably higher than the lycopene and control groups. Rats in the diabetes group and lycopene group had

higher catalase levels in the kidney tissue than control group and this was statistically significant (Table 2).

DISCUSSION and CONCLUSION

Diabetes is a chronic metabolic disease and also a state of increased oxidative stress. Increased free radicals interact with proteins, lipids and nucleic acids so that it causes loss of functional alterations, structural and membrane integrity of proteins and genetic mutations. Organisms has non enzymatic and enzymatic antioxidant advocacy systems to overcome these injurious effects of radicals (23).

Lipid peroxidation level (LPO), with structural and functional varieties at cell membrane, is a significant indicator of membrane damage. Free radicals induced lipid peroxidation is linked with degenerative diseases including diabetes (24). In accordance with the findings of a study (25), MDA-TBA levels were increased in kidney and liver tissues of diabetic rats. The increase in MDA-TBA levels is a significant indicator of peroxidative stress and advanced complications of diabetes (25). In the present study, the liver MDA level of diabetes group was observed to be higher than the other groups but that was not notably significant. Vitamin A and vitamin E levels of diabetes-lycopene and lycopene groups were found to be notably higher than the other groups. A statistically significant decrease was

observed in liver catalase activity in lycopene group compared to other groups.

Certain studies reported that if the duration of diabetes takes longer, the severity of oxidative stress is also increased. Singh et al. (26) determined a strong correlation between the duration of diabetes, metabolic control and oxidative stress (26). Another study determined that oxidative stress decreased as soon as the metabolic control was under the control in Type I and Type II diabetes patients (27).

The reason that there was no important difference in point of glutathione levels in the liver and kidney tissues of the groups could be a result of the diabetes created within a short time. Yılmaz et al. (28), reported high levels of LPO in the groups with diabetes longer than five years and low levels of antioxidant enzymes like GSH-Px and SOD. However, they did not report statistical significance (28). They attributed this finding to the fact that there was no difference between glucose regulation at both groups and they reported that the findings were supportive for the idea of positive correlation between metabolic control and oxidative stress in diabetes (26). Another study showed similar findings in parallel with our study (28). Consequently, they came to the conclusion that there was no important difference in terms of oxidative stress among the groups that was having diabetes treatment for five years or more and the group with shorter treatment period. There was also no difference in the glucose regulation among these two groups which may be a factor for this result (29).

The most important cellular defense unit against ROS is glutathione (GSH) exists in all mammalian cells. GSH as an electron donor in non-enzymatic reactions acting directly with radicals to eliminate those radicals. It was stated that the decrease of GSH level in the tissues is parallel with an increase in LPO (30). Study findings demonstrated that GSH levels decreased both in kidney, liver tissues in a diabetic group. Demir and Yılmaz (31) stated that increased both in liver and kidney tissues in the group treated with pine oil. It was predicted that

antioxidant molecules of pine oil were the reason for this increase (31). This present study showed that there was no significant difference among liver and kidney tissues with regard to glutathione.

Catalase activity is intensive in kidney, erythrocyte and liver. In another study, it was emphasized that patients with type II diabetic have enhanced serum catalase activity (32). Yet, that increase could be a compensative mechanism to protect itself from lipid peroxidation (33). In our study, a statistically important decrease was determined in the catalase activity of liver of lycopene group compared to the other groups. In other words, diabetes induced high catalase activity and lycopene induced low catalase activity was observed in the present study. It was concluded that the catalase activity decreased in lycopene group due to its supportive effect on lipid peroxidation and increased in diabetic groups due to increasing lipid peroxidation. Salvi et al. (34), reported that catalase in liver mitochondria has antioxidant defense properties and it is especially effective on increasing hydrogen peroxide. The most affected factor by peroxidation in liver was the catalase activity, which is also observed in the present study.

Vitamin A is a group of compounds required for vision, reproduction, growth and strength of epithelial tissue (35). Vitamin A (retinol) displays antioxidant activity against free radicals. It is accepted that free radicals have roles in many pathogenesis of degenerative diseases including diabetes (36). Demir and Yılmaz (31), found that vitamin A level in liver and kidney tissues increased in rats with diabetes, however it decreased in kidney tissues especially after pine oil application (31). Vitamin A level increased in kidney, liver tissues of diabetic rats, but as a result of pine oil treatment vitamin A decreased especially kidney tissue. Vitamin A level decreased in STZ induced diabetes of rat's plasma but it increased in liver tissue. It was hypothesized that decreasing activity of retinol carrier protein (RBP) was responsible for that increase (31). Abnormalities in vitamin A metabolism

in diabetes were optimized by applying of insulin. In a study, it was determined that there weren't any changes in retinol level of rat's plasma with STZ induced diabetes but retinol level was continuously increased during the experiment (37). Similar findings were found in previous studies (38). In our study, it was observed that vitamin A level of kidney tissue was lower in all groups in proportion to the control group.

α -tocopherol is the most plenty form of vitamin E in the nature which has the highest biological activity. Demir and Yılmaz (31), have determined that α -tocopherol level was increased in diabetic group but as a result of pine oil treatment, α -tocopherol and δ -tocopherol levels were slightly decreased in kidney, liver tissues (31). α -tocopherol transfer protein (α -TTP) is responsible for the regulation and distribution of α -tocopherol in plasma and peripheral tissues. An increase of α -tocopherol in diabetic human plasma and rodent plasma and liver tissue was reported by others (30, 39). It was stated that α -tocopherol level was increased as a result of hyperglycemia or insulin resistance regulated α -TTP gene expression (39). The findings of the present study were consistent with previous studies. It can be speculated that the increase of α -TTP activity can be responsible for the α -tocopherol increase in liver and kidney tissues. The similar findings were reported in previous studies (40, 41). In the present study, vitamin E levels in kidney tissues of diabetic group and diabetes+lycopene group were determined higher than the control group and lycopene group, but that increase was not statistically significant.

Under normal conditions, free radicals are neutralized by natural antioxidants such as catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px). In the present study a significant difference between the catalase levels in kidney and liver tissues of groups were not observed, similar results were also reported by others (42).

Kidney MDA levels in diabetes+lycopene group and lycopene group were observed lower than the other groups, but this decrease was not statistically

significant. Important difference was not observed among the groups regarding glutathione levels of kidney and liver tissues in the present study. Vitamin A level in kidney tissues of the control group was higher than the other groups and this difference was found to be statistically important. Vitamin A level in kidney tissues was determined lower in lycopene group than the other groups and that difference was statistically significant. Vitamin E level in kidney tissues of diabetic group and diabetes+lycopene group were found to be higher than the lycopene and control groups, but that difference was not statistically important.

In this present study, there was not a important difference among the groups except the catalase levels of liver and kidney tissues. Therefore, lycopene might have activated antioxidant system by increasing antioxidant enzymes even additional oxidative stress has not been given. Lycopene protection against diabetes due to its antioxidant effect observed in the antioxidant enzymes activities could be linked to the changes in the antioxidant-prooxidant homeostasis. In accordance, lycopene therapy has been beforehand showed to modulate in vivo the activity of antioxidant enzymes (decrease CAT activity and increase SOD activity), even in the lack of a pro-oxidant therapy (43). The present results showed that Vitamin A levels of kidney tissues could be induced by short period of diabetes, which supports the idea of positive connection between metabolic control and oxidative stress during diabetes.

The study recommend that type 2 diabetes mellitus is associated with decreased plasma Pyridoxal 5'-phosphate concentrations and changes in vitamin B₆ metabolism, especially in patients with incoming nephropathy (44).

The study claim that concentrations of together with lycopene and lutein/zeaxanthin check against pro-vitamin A carotenoids were notably lower in the retinopathy group than non-retinopathy group (45).

Garcinia kola seed practice notably improved hyperglycemy intervene injury by decrescent the

glucose level, augmentation of the antioxidant system, inhibition of lipid peroxidation, development the architecture of the liver, testes and kidney in rats with diabet. In addition, *G. kola* seed agency repaired the liver, kidney function biomarkers, the sperm characteristics additionally the plasma levels of LH, FSH, testosterone, T₃ and thyroxine to normal in rats with diabet (46).

The study, its was explored the performance of rosmarinic acid (R.A.) in forbit the change of oxidative parameters in the liver, kidney of rats with diabet. Its results state that RA influentially decreased the oxidative stress excited by STZ, claim that RA is a potential factor for the prohibit and therapy of pathological conditions in Diabetes Mellitus (47).

As a result, liver MDA level of diabetes group was observed to be higher than the other groups. Therefore, lycopene might have initiated antioxidant system by expanding anti-oxidant enzymes even tough supplementary oxidative stress was not given. In our study, any important difference was found among the groups except for the catalase levels of kidney liver, tissues. Catalase activities in kidney tissues of diabetic group and lycopene group were found to be higher than the diabetic + lycopene and control groups. A significant decrease in catalase activities was only observed in the lycopene group in liver tissues. It can be concluded that the failure of liver and kidney caused by diabetes can be prevented by the antioxidant effect of lycopene which increases the activity of antioxidant enzymes in the oxidant defense system.

This data claim that lycopene might be useful in the therapy of Diabetes Mellitus.

Conflict of interest

The authors explain that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Onat T., Emerk K., Sözmen YE., 2006. İnsan Biyokimyası. In "Diabetes Mellitus", Ed. T Onat, K Emerk, EY Sözmen, 2nd ed., 280-281, Palme
2. Di Mascio P., Murphy ME., Sies H., 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*, 53, 194-200.
3. Larson RA., 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27, 969-978.
4. Kalaycıoğlu L., Serpek B., Nizamlıoğlu M., Başpınar N., Tiftik AM., 2000. *Biyokimya*, 265-305, 2nd ed., Nobel Yayın Dağıtım Ltd Şti, Ankara.
5. Murray RK., Granner DK., Mayes PA., Rodwell VW., 2004. *Harper Biyokimya*, 642-653, 25nd ed., Nobel Matbaacılık, Ankara.
6. Stringer MD., Gorog PG., Freeman A., Kaskar VV., 1989. Lipid peroxides and atherosclerosis. *Br Med J*, 298, 281-284.
7. Karabulut H., Gulay MŞ., 2016. Serbest radikaller. *MAKÜ Sag Bil Enst Der*, 4, 50-59.
8. Dikici İ., 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Selçuk Üniv Tıp Fak Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya.
9. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt KV., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot Fennici*, 91, 179-194.
10. Martinez A., Rodriguez-Girones MA., Barbosa A., Costas M., 2008. Donator acceptor map for carotenoids, melatonin and vitamins. *J Phys Chem A*, 112, 9037-9042.
11. Lauretani F., Semba RD., Dayhoff-Brannigan M., Corsi AM., Di Iorio A., Buiatti E., Bandinelli S., Guralnik JM., Ferrucci L., 2008. Low total plasma carotenoids are independent predictors of mortality among older persons: The In CHIANTI study. *Eur J Nutr*, 47, 335-340.
12. Omoni AO., Aluko RE., 2005. The anti-carcinogenic and anti-athero- genic effects of lycopene: a review. *Trends Food Sci Tech*, 16, 344-350.
13. Amin AR., Kucuk O., Khuri FR., Shin DM., 2009. Perspectives for cancer prevention with natural

- compounds. *J Clin Oncol*, 27, 2712-2725.
14. Ellinger S., Ellinger J., Müller SC., Stehle P., 2009. Tomatoes and lycopene in prevention and therapy-is there an evidence for prostate diseases? *Aktuelle Urol*, 40, 37-43.
 15. Gupta SK., Trivedi D., Srivastava S., Joshi S., Halder N., Verma SD., 2003. Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutrition*, 19, 794-799.
 16. Karabay G., Zagyapan R., Take G., 2006. Streptozotosinle oluşturulan diabetin sıçan periferik sinirleri üzerine etkisinin elektron mikroskopik incelenmesi. *Uludag Uni Tıp Fak Derg*, 32, 77-81.
 17. Rencuzogullari N., Erdogan S., 2007. Oral administration of lycopene reverses cadmium-suppressed body weight loss and lipid peroxidation in rats. *Biol Trace Elem Res*, 118, 175-183.
 18. Beutler E., Duran O., Kelly B., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61, 882-888.
 19. Martinek RG., 1964. Method for the determination of Vitamin E (total tocopherols) in serum. *Clin Chem*, 10, 1078-1086.
 20. Suzuki I., Katoh N., 1990. A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. *Jpn J Vet Sci*, 52, 1281-1283.
 21. Gutteridge JM., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 41, 1819-1828.
 22. Aebi H., 1984. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol*, 105, 121-126.
 23. Memisogullari R., Bakan E., 2004. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complicat*, 18, 193-197.
 24. Ramachandran V., Saravanan R., 2013. Asiatic acid prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Funct Food*, 5, 1077-1087.
 25. Saravanan G., Ponmurugan P., 2011. Ameliorative potential of S-allyl cysteine on oxidative stress in STZ induced diabetic rats. *Chem-Biol Interact*, 189, 100-106.
 26. Singh S., Melkani GC., Rani C., Gaur SPS., Agrawal V., Agrawal CG., 1997. Oxidative stress and metabolic control in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Indian J Biochem Bio*, 34, 512-517.
 27. Wierusz-Wysocka B., Wysocki H., Byks H., Zozulinska D., Wykretowicz A., 1995. Metabolic control quality and free radical activity in diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*, 27, 193-197.
 28. Yılmaz N., Vural H., Eren Z., Ceylan C., Nazlıgül Y., 2000. Tip 2 diyabetik hastalarda diyabet süresinin oksidatif stres üzerine etkisi. *Türk Tıp Derg*, 7, 37-39.
 29. Ciftci Yegin S., Mert N., 2013. Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Hba1c, Mda, Gsh-Px ve Sod Miktarlarının Tayini. *Van Vet J*, 24, 51-54.
 30. Maritim AC., Sanders RA., Watkins JB., 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxic*, 17, 24-38.
 31. Demir E., Yılmaz Ö., 2014. Streptozotosinin neden olduğu tip-1 diyabette cam yağının karaciğer ve böbrek dokusundaki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Karaelmas Fen Müh Derg*, 4, 43-51.
 32. Memisogullari R., Taysi S., Bakan E., Capoglu I., 2003. Antioxidant Status and Lipid Peroxidation Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Funct*, 21, 291-296.
 33. Komosinska-Vassev K., Olczyk K., Olczyk P., Winsz-Szczotka K., 2005. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pr*, 68, 207-216.
 34. Salvi J., Matabosch C., Fofi D., Forest J., 2007. A review of recent range image registration methods with accuracy evaluation. *Image Vis*

- Comput, 25, 578-596.
35. Memisogulları R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fak Derg, 3, 30-39.
36. Cao U., Dc E., In U., Ac N., 2006. Effect of glycaemic control on serum retinol and beta carotene levels in Type 2 diabetics in Calabar, Nigeria. Malays J Nutr, 12, 55-65.
37. Tsin ATC., Griffin BW., Mata NL., Yu HS., Williams GW., Crider JY., Chandler ML., 1993. Vitamin A homeostasis in the diabetic rat. J Clin Biochem Nutr, 15, 23-31.
38. Cemek M., Kaga S., Simsek N., Buyukokuroglu ME., Konuk M., 2008. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Matricaria chamomilla* L. in streptozotocin induced diabetic rats. J Nat Med, 62, 284-293.
39. Miyazaki H., Takitani K., Koh M., Takaya R., Yoden A., Tamai H., 2013. α -tocopherol status and expression of α -tocopherol transfer protein in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. J Nutr Sci Vitaminol, 59, 64-68.
40. Hozumi M., Murata T., Morinobu T., Manago M., Kuno T., Tokuda M., Konishi K., Mingci Z., Tamai H., 1998. Plasma beta-carotene, retinol, and alpha-tocopherol levels in relation to glycemic control of children with insulindependent diabetes mellitus. J Nutr Sci Vitaminol, 44, 1-9.
41. Arulselvan P., Subramanian SP., 2007. Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic β -cells in experimental diabetes in rats. Chem.-Biol. Interact, 165, 155-164.
42. Noyan T., Balahoroglu R., Komuroglu U., 2004. Diyabetik sıçanlarda ünsülinle kombine edilmiş A, E ve C vitamini tedavisinin antioksidan enzimler üzerine Etkileri. Türkiye Klinikleri J Med Sci, 2, 113-119.
43. Moreira EAM., Fagundes RLM., Filho DW., Neves D., Sell F., Bellisle F., Kupek E., 2005. Effects of diet energy level and tomato powder consumption on antioxidant status in rats. Clin Nutr, 24, 1038-1046.
44. Nix WA., Zirwes R., Bangert V., Kaiser RP., Schilling M., Hostalek U., Obeid R., 2015. Vitamin B status in patients with type 2 diabetes mellitus with and without incipient nephropathy. Diabetes Res Clin Pract, 107, 157-165.
45. Yan MKW., Khalil H., 2017. Vitamin supplements in type 2 diabetes mellitus management: A review. Diabetes Metab Syndr, 11, 589-595
46. Adedara IA., Awogbindin IO., Anamelechi JP., Farombi EO., 2015. *Garcinia kola* seed ameliorates renal, hepatic, and testicular oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharma Biol, 53,695-704.
47. Mushtaq N., Schmatz R., Ahmed M., Pereira LB., Costa P., Reichert KP., Dalenogare D., Pelinson LP., Vieira JM., Stefanello N., Oliveira LS., Mulinacci N., Bellumori M., Morsch VM., Maria Rosa Schetinger MR., 2015. Protective effect of rosmarinic acid against oxidative stress biomarkers in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. J Physiol Biochem, 71, 743-751.



The Effect of Thyme (*Thymbra spicata L. var. spicata*) Essential Oil on the Antioxidant Potential and Meat Quality of Japanese Quail Fed in Various Stocking Densities *

Süleyman Ercüment ÖNEL^{1a}, Taylan AKSU^{2b}

1. Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Disorder, Hatay, TURKEY.
2. Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Disorders, Van, TURKEY.
ORCID: 0000-0001-6599-0541^a, 0000-0002-2977-200X^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
22.11.2018	24.04.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Önel SE, Aksu T: The Effect of Thyme (*Thymbra spicata L. var. spicata*) Essential Oil on The Antioxidant Potential and Meat Quality of Japanese Quail Fed In Various Stocking Densities. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 14(2): 129-136, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.486782

Abstract: This study was conducted to determine the antioxidant effect of the Thyme (*Thymbra spicata L. var. spicata*) essential oil on meat quality of Japanese Quail fed in various stocking densities. In this study, a total of up to 7-day age 300 Japanese Quails (*Coturnix coturnix Japonica*) chickens were used and the experimental period lasted for 28 days. The chickens were divided into 6 groups, each containing 50 chicks Control group (CONT), High stocking density control group (HSD-CONT), an antibiotic group (HSD-ANT), zahter oil groups (HSD-T₁, T₂, T₃). At the end of the study, serum MDA level was found significantly higher in the HSD-ANT group than the other groups (P<0.01). It was determined that the stocking density has a significant effect on the pH and colour of brisket (P<0.01). Moreover, inclusions of thyme essential oil supplementation into the diets of quails fed in high stocking density provided various levels of improvements on antioxidant potential, and especially thyme EO at 600 mg per kg were found more effective to ameliorate the detrimental effects of oxidative stress caused by high stocking density.

Keywords: Antioxidant, Japanese Quail, Stocking Density, Thyme Essential Oil.

Zahter (*Thymbra Spicata L. var. Spicata*) Uçucu Yağının Farklı Yerleşim Sıklığında Beslenen Japon Bildircinlerinde Antioksidan Potansiyel ve Et Kalite Parametrelerine Etkisi

Öz: Bu çalışma zahter (*Thymbra spicata L. var. spicata*) uçucu yağının farklı yerleşim sıklığında beslenen Japon bildircinlerinde antioksidan potansiyelini ve et kalitesine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, 7 günlük yaşta, toplam 300 adet Japon bildircin (*Coturnix coturnix japonica*) civciv kullanılmış ve çalışma 28 gün sürdürülmüştür. Civcivler, her biri 5 tekerrür ve 50 civcivden oluşan 6 gruba ayrılmıştır. Araştırma grupları; normal yerleşim sıklığında kontrol grubu (NYS-KONTROL), yoğun yerleşim sıklığında kontrol grubu (YYS-KONT), yoğun yerleşim sıklığı uygulanan gruplara sırayla 200, 400, ve 600 mg/kg zahter uçucu yağı ve 10 mg/kg *Avilamin* katkısı yapılan grup (YYS-ANT) şeklinde dizayn edilmiştir. Araştırmada, 50x100 cm ebadındaki kafeslerde, normal yerleşim sıklığı 160 cm²/bildircin; yoğun yerleşim sıklığı ise 90 cm²/bildircin olarak düzenlenmiştir. Çalışma sonunda, serum MDA düzeyinin YYS-ANT grubunda diğer gruplara göre önemli derecede yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.01). Araştırma sonunda, en düşük göğüs eti pH'sı YYS-KONT grubunda belirlenirken üzerine yerleşim sıklığının etkisi önemli (P<0.01) bulunmuştur. Sonuç olarak, yerleşim sıklığı uygulanan bildircin rasyonlarına zahter uçucu yağı ilavesi, lipid peroksidasyonu üzerinde doza bağlı olarak iyileşmeler sağlamış ve özellikle 600 mg/kg zahter uçucu yağının daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Bildircin, Performans, Uçucu Yağ, Yerleşim Sıklığı.

^aSüleyman Ercüment Önel

Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Disorder, Hatay, TURKEY.
e-mail: ercumentonel@gmail.com

*Part of the dissertation, Correspondence to: Dr. S Ercüment ÖNEL. This project was funded by the University of Mustafa Kemal, Scientific Research Project Commission (Project no: 2012/9-3).

INTRODUCTION

Antioxidants are the substances which increase the product quality by inhibiting the oxidation of substrate or delaying the oxidation at very low concentrations in feeds and meat. Antioxidants can be used as food additives or supplements to stabilize the feeds and prevent the component loss in the feeds. The mechanism of feed preserving antioxidants are to eliminate the metal ions or oxygen activities or to prevent the attachment of the free radicals by sending an electron or hydrogen atom (1,2).

In poultry farming, the oxidative stressors such as density, high or low temperature, transportation and vaccination directly affect the quality parameters of meat. Stressors cause the stored glycogen to transform into glucose. In case of prolonged stress conditions the glucose transforms into lactic acid resulting in dark coloured, dry, undesirable and inadequately marbled with high pH and short shelf life meat (3). Post slaughter meat quality is primarily affected by the transformation of the glycogen stored in muscles into lactic acid and the water retention capacity and colour are affected directly depending on the hydrolysis features of the meat proteins (4). In the post-slaughtering period when carcass temperature is 37 °C, a rapid decline in pH causes to shrink myofibril proteins, deteriorate sarcoplasmic proteins and make the processing of the meat harder (3).

The colour of meat is an important quality factor influencing the consumers' choice and it is known to be related to the characteristics such as water retention capacity, texture and chemical composition (5).

Broiler breasts with low L* value and low pH measured 24 hours after slaughter have a pale color and low water retention capacity (6). It has been reported that if the L* value of the broiler breast meat is larger than 53 it can be ranked as lighter coloured and more juicy than normal, as normal

between 48-53, and as dark coloured, when the value is lower than 46 (7).

Some researchers (8) report that, depending on the stress, meat is darker in chickens and higher in pH. Conversely, in some studies (9), dark-colored poultry meats without depending on pH values. These meats have lower L (brightness) value, higher a (redness) and b (yellowness) values.

Since medicinal plants contain antioxidants, they have a protective effect in nutrients (10). Synthetic antioxidants such as butyl hydroxy anisole and butyl hydroxy toluene have a field of use in meat and meat products, but due to concerns arising from the possible negative effects of such products on human health, there is an ongoing need for healthy antioxidant substances. Therefore, studies on the use of plant extracts are increasing because of the reliability and ease of availability (11).

MATERIALS and METHODS

Animals, Feeds and Experimental Design

In the study, 7 days old, 300 Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) were used for 28 days. The chicks were divided into 6 groups each consisting of 5 replications and 50 chicks. In the experiment, in addition to the control group, intensive stocking density was established with intensive stocking control group (YYS-KONT) only with basic ration, and basic ration 10 mg / kg Avilamycin supplement YYS-ANT) group and zahter group (YYS-T1, T2, T3) (200, 400, 600 mg / kg essential oil supplemented respectively).

In the study, the quails in the control group were placed in a cage area of 160 cm²/quail in 50x100 cm size cages and the intensive stocking group in a 90 cm²/quail cage. A 24-hour lighting program and nutrient content of commercial feed broiler chick starter was used as shown in Table 1.

The experimental protocol was approved by Hatay Mustafa Kemal University Animal Experiments Local Ethics Committee (Authorization Number: 2012 / 09-03).

Table 1. Ingredient and composition of all the basal diet. (g/kg).**Tablo 1.** Bazal rasyon besin madde ve içerikleri (g/kg).

Ingredients	Composition
Maize	515.0
Wheat	77.0
Wheat bran	45.0
Extracted soybean meal	275.0
Fish meal	55.0
Vegetable oil	15.0
Limestone	10.0
Dicalcium phosphate	7.5
Sodium chloride	2.5
Vitamin-mineral premix*	5.0
Calculated nutrients	
ME, (MJ kg ⁻¹)**	12.6
Crude protein (g kg ⁻¹)	221
Ca (g kg ⁻¹)	9.0
P (g kg ⁻¹)	6.0
Lysine (g kg ⁻¹)	11.0

*: Per kilogram vitamin; retinyl acetate, 1.8 mg; cholecalciferol, 0.025 mg; α -tocopherol acetate, 1.25 mg; menadione (menadione sodium bisulphate), 1.1 mg; thiamine (thiamine mononitrate), 1.1 mg; riboflavin, 4.4 mg; niacin, 35 mg; Ca-pantothenate, 10 mg; pyridoxine, 2.2 mg; folic acid, 0.55 mg; cyanocobalamin, 0.02 mg; Mn, 74 mg (from MnO); Zn, 45 mg (from ZnO); Cu, 4 mg (from CuO); Fe (from FeSO₄), 12.5 mg; I (from KI), 0.3 mg; Se (from NaSe), 0.15 mg. ** ME: Metabolizable energy. The ME, crude protein, calcium, phosphorus and lysine contents were calculated based on their tabular values listed for the feeding ingredients (12).

*: Kg başına düşen vitamin premiksleri: retinil asetat, 1.8 mg; kolekalsiferol, 0.025 mg; α -tokoferol asetat, 1.25 mg; menadion (menadion sodyum bisülfat), 1.1 mg; tiamin (tiamin mononitrat), 1.1 mg; riboflavin, 4.4 mg; niacin, 35 mg; Ca-pantotenat, 10 mg; piridoksin, 2.2 mg; folik asit, 0.55 mg; Siyanokobalamin, 0.02 mg; Mn, 74 mg (MnO); Zn, 45 mg (ZnO); Cu, 4 mg (CuO); Fe (FeSO₄), 12.5 mg; I (KI), 0.3 mg; Se (NaSe), 0.15 mg. ** ME: Metabolize olabilen enerji. ME, ham protein, kalsiyum, fosfor ve lizin içerikleri, besleme bileşenleri için listelenen tablo değerlerine dayanarak hesaplandı.

Plant Material

The essential oils were extracted from *Thymbra spicata* L. var. *spicata* plant. Blooming plants were collected from their localization and were dried at 35°C.

Characterization of Essential Oil

Determination of the essential oil's chemical ingredient was performed with Thermo Scientific ISQ Single Quadrupole model gas chromatograph. TG-

Wax MS-A model, 5% Phenyl Polysilphenylene-siloxane, 0.25 mm inner diameter x 30 m length, 0.25 μ m film thickness column was used. Helium (99.9%) was used as the carrier gas at a flow rate of 1 mL / min. The ionization energy was set at 70 eV and the mass range m / z at 1.2-1200 amu. For collecting dataScan mode (Scan Mode) was used.

The MS transfer line temperature was 250 °C, the MS ionization temperature was 220°C, the injection port temperature was 220 °C, the column temperature was initially 50 °C and the temperature was increased up to 220 °C at a rate of 3 °C/min. The structure of each compound was defined using mass spectra by Xcalibur program.

Determination of Some Blood Parameters and Antioxidant Potential

At the end of the experiment, 20 quails -10 females and 10 males-were randomly selected from each repeat group and the blood samples were taken during the cervical dislocations (vena jugularis) and after being centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes, serum samples were taken into eppendorf tubes and stored at -18°C until the analyzes were carried out.

Analyzes of albumin, total cholesterol, creatine, total protein, triglyceride, HDL, LDL, globulin, urea were performed using Architect C8000 auto analyzer (ABBOTT, Germany) in an accredited laboratory.

Determination of Meat Quality Parameters

In the experiment, a total of 72 quails (6 females and 6 males for each group) were randomly selected and the weight of hot carcass was immediately weighed after the slaughtering was completed. Later, these carcasses were kept in the refrigerator at + 4°C for 24 hours to determine the cold carcass weights. Briskets (M. Pectoralis major), from the right half of each carcass was used to determine pH and color characteristics. After slaughtering, the pH was determined from the brisket by a portable pH meter (Mettler Toledo SG2) with glass electrode (Inlab 427). Glucose (L*), redness (a*) and yellowness coordinates (b*) were determined for color analysis

with the aid of a colorimeter (Konica Minolta CR-400) from the skin 4 hours after slaughter. The following formula was used for determination the carcass yield in the experiment.

Carcass yield (%) = Carcass weight (g) / Live weight (g) * 100

Statistical Analysis

SPSS 11.5 package program was used for statistical analysis (13). The two-way ANOVA test was used to compare groups. In order to determine the difference between the groups, Duncan's multiple comparison test was used. When the results were evaluated statistically, the significance was based on $P < 0.05$. The chi-square test was used to determine the death rates and rates of the research groups.

RESULTS

The essential oil's chemical ingredient is given in Table 2. Thyme oil mainly consisted of carvacrol (71.6%), ocimene (9.03%) and γ -terpinene (5.83%) respectively; and also formed high level of phenolic components including 72% of phenol and 21% of hydrocarbon.

Table 2. Chemical components *Thymbra spicata* L. oil.
Tablo 2. *Thymbra spicata* L. uçucu yağının kimyasal bileşenleri.

Retention Time (RT)	Rate (%)	Components
18.04	0.67	l-Phellandrene
18.62	0.45	Delta.3-Carene
22.26	0.18	Succinaldehyde
22.64	0.77	Beta-Myrcene
24.86	1.06	Alpha-Humulene
25.59	9.03	o-Cymene
25.83	0.36	Cis-D-Dihydrocarveol
28.31	5.83	Gama-Terpinene
29.36	0.26	Trans-Sabinenehydrate

31.12	0.41	Cis-Sabinenehydrate
33.99	0.08	3-Pinanylamine
34.18	0.93	4-Terpineol
36.01	0.31	Z,Z,Z-1,4,6,9-Nonadecatetraene
36.93	0.27	Thymol
37.12	71.62	Carvacrol
39.39	1.91	Caryophyllene
39.71	0.18	Farnesol
40.01	0.11	Trans-Z-alpha-Bisaboleneepoxide
40.26	0.44	Beta-Lactose
40.58	0.33	Tetraacetyl-d-xlonicnitrile
41.77	4.75	1Monolinoleoyglyceroltrimethylsilylether
42.30	0.09	12,15-Octadecadiynoicacid, methylester
42.44	0.53	Caryophylleneoxide
47.51	0.42	Methylperfluorobutyrate

Serum MDA Level and Some Biochemical Parameters

Stocking density significantly affected serum MDA levels in research groups ($P < 0.01$) (Table 3). The highest serum MDA level (13.36 ± 0.39) was found in negative stocking density control group (YYS-KONT) while the lowest value (10.24 ± 0.65) in positive control group (NYS-KONT) ($P < 0.01$). There was no statistical difference between the study groups in terms of some examined biochemical parameters ($P > 0.05$). Although there was no statistical difference between the groups in terms of other biochemical parameters examined, YYS-KONT serum total albumin (1.04 ± 0.03), globulin (1.63 ± 0.28) creatine (0.29 ± 0.01), urea (1.89 ± 0.28) and total oxidant potential (10.30 ± 1.73) levels, in parallel with serum MDA level, were found numerically higher than the other groups.

Table 3. Serum MDA and some biochemical parameters of the groups.**Tablo 3.** Grupların serum MDA ve bazı biyokimyasal parametre değerleri.

	NSD-CONT	HSD- CONT	HSD-ANT	HSD-T1	HSD-T2	HSD-T3	
SERUM MDA (µmol/L)	10.24±0.65 ^c	13.36±0.39 ^a	11.23±0.65b ^c	12.25±0.43 ^{ab}	12.33±0.41 ^{ab}	10.58±0.34 ^c	**
Albumin (g/dL)	0.92±0.07	1.04±0.03	0.94±0.05	0.99±0.03	0.95±0.52	0.93±0.04	NS/ÖD
Total Kolesterol (mg/dL)	181.71±12.03	217.57±10.33	186.89±8.64	196.14±10.17	185.91±11.50	181.74±11.80	NS/ÖD
Kreatin (mg/dL)	0.25±0.01	0.29±0.01	0.25±0.01	0.27±0.01	0.26±0.01	0.26±0.01	NS/ÖD
TAS (mmol/L)	1.58±0.12	1.98±0.09	1.86±0.05	1.79±0.09	1.58±0.07	1.68±0.08	NS/ÖD
TOS (umol/L)	10.19±0.96	10.30±1.73	9.17±0.63	7.14±0.55	7.91±0.71	8.54±1.67	NS/ÖD
Total Protein (g/dL)	2.28±0.16	2.68±0.08	2.4±0.13	2.51±0.09	2.50±0.14	2.37±0.02	NS/ÖD
Trigliserit (mg/dL)	188.63±14.93	264.99±16.93	233.24±17.71	225.99±23.37	190.39±14.38	194.94±14.34	NS/ÖD
HDL (mg/dL)	84.45±8.39	109.73±7.96	91.65±7.19	100.16±6.71	91.66±7.93	86.92±6.97	NS/ÖD
LDL (mg/dL)	59.76±10.41	54.84±6.08	51.14±9.85	44.04±4.19	59.23±11.32	59.87±17.52	NS/ÖD
Globulin (mg/dL)	1.35±0.09	1.63±0.06	1.45±0.09	1.51±0.06	1.55±0.09	1.43±0.07	NS/ÖD
Urea (mg/dL)	1.15±0.36	1.89±0.28	1.78±0.31	1.69±0.26	1.60±0.31	1.45±0.39	NS/ÖD

** The difference between the averages indicated by different letters on the same line is statistically significant (P <0.01). NS: Not significant

** Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir (P<0.01). ÖD: Önemli değil

Meat Quality Parameters

It was found that meat quality parameters and pH are significantly influenced by the treatments (P<0.05) (Table 4). It was found that high stocking density reduces the meat pH values and this reduction was more pronounced especially in the

antibiotic supplement group (YYS-ANT, 5.97 ± 0.04) and the thyme essential oil supplement groups YYS-T1 (6.02 ± 0.04) and YYS-T2 (6.06 ± 0.03). L *, a * and b * values of the meat quality parameters of the groups were not affected by the treatments.

Table 4. Meat quality parameters.**Tablo 4.** Et kalite parametreleri.

Meat pH Values							
	NSD-CONT	HSD- CONT	HSD-ANT	HSD-T1	HSD-T2	HSD-T3	
pH 0	6.23±0.18 ^a	6.08±0.05 ^{bc}	5.97±0.04 ^c	6.02±0.04 ^c	6.06±0.03 ^{bc}	6.16±0.03 ^{ab}	**
Meat Colour Analysis							
24'th hour L	55.73±0.68	55.83±0.58	55.01±0.80	55.37±0.72	54.23±0.72	54.95±0.64	NS/ÖD
24'th hour A	10.40±0.75	10.89±0.63	11.13±0.74	10.44±0.73	10.64±0.61	11.43±0.63	NS/ÖD
24'th hour B	7.48±0.40	7.70±0.39	8.01±0.45	8.30±0.58	6.96±0.37	7.58±0.42	NS/ÖD

The differences between averages with different letters on the same line are important.

** The difference between the averages indicated by different letters on the same line is statistically significant (P<0.01).

NS: Not significant

Aynı satırda farklı harfler taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

** Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

ÖD: Önemli değil

DISCUSSION and CONCLUSION

In the study, the antioxidant potential of thyme (zahter) (*Thymbra spicata* L. var. *Spicata*) and its impacts on meat quality of Japanese quails reared in different stocking densities were investigated. MDA values of YYS-T3 group were found to be closer to that of the control group (10.58 $\mu\text{mol/L}$ ml and 10.24 $\mu\text{mol/L}$ respectively). Serum MDA levels of all other treatment groups quails, except YYS-T3, were found significantly higher compared to the control group. The findings are consistent with Malayoğlu et al. (14) studied 100 mg carvacrol + 250 mg carnolic acid additive effects. Kaya and Turgut (15) investigated the effects of mint, thyme, sage extracts and vitamin E on triglyceride and serum cholesterol levels. These supplements were added to egg hen ratios at different doses and thyme and sage extracts of 300 mg / kg could be used as an alternative to vitamin E due to lipid oxidation inhibition and cholesterol-lowering effects of plant extracts and vitamin E additions.

No statistical significance was found in serum creatinine, total cholesterol, HDL and LDL values in essential oil-treated groups and these results were parallel with Seven et al. (16) studied Japanese quails breeding in stocking densities. However, Seven et al. (16) found that stocking density groups' total protein, serum albumin and globulin levels were higher than of the control group and the serum urea levels in stocking density groups were higher than the other groups and these findings are inconsistent with this study.

Seven et al. (16) and Chowdhury et al. (17), suggested that serum protein levels are effective on the immune system. In case of stress-induced disease, toxicity, etc. an increase can be observed in these values due to deterioration of immunity system and the significant increase in serum albumin, globulin, urea, total protein levels are related to the oxidative stress caused by stocking density. Aksu et al. (18) reported that using thyme essential oil (200-400-600 mg / kg) caused no significant difference in

cholesterol and TAS levels, but there was no significant difference in triglyceride and TOS averages in 400 mg / kg group.

Yörük et al. (19) showed that when stocking density increased, triglyceride, total protein and creatine levels in blood serum parameters of Japanese quails decreased significantly. The decrease of triglyceride and glucose levels in accordance with the increase of stocking density indicated that the consumption of feed might have reduced as the stocking density intensified. Since it was seen that the the amount of feed consumption in the experimental groups was not decreased due to the stocking density, the cause of decline in triglycerides and glucose remained unexplained.

Depending on the changes on hemoglobin and myoglobin concentration, a colour change occurs in meat and this change is correlated with the pH value of meat. If the meat colour is dark, the pH is high; if it is lighter, the pH is recorded as low (20).

The values obtained for the L, a and b color features of briskets were not statistically significant. This is consistent with the studies reporting stocking density has no effect on color features (21). Meluzzi et al. (22) reported that the stocking density in broilers significantly increased the a * and b * values of meat. Zhang et al. (23) reported that brisket color characteristics were not affected by the stocking density. Castellini et al. (24) reported that the stocking density increased significantly especially L * and b * values of broilers bred at different stocking densities.

In current study, essential oil had a significant effect on breast meat. Ph values of experimental groups, 200 mg / kg essential oil group (YYS-T1) and antibiotic (YYS-ANT) group, had similar pH values and both groups had higher values than the other groups. In some studies, it was reported that the stocking density had no effect on meat pH values (21, 25).

At the end of the study, it was determined that high stocking density (90 cm / quail) increased

the stress level in quails (significantly increased the serum MDA level) and supplementation of thyme essential oil enhanced the serum MDA levels comparing to the negative control group. Thyme essential oil had no significant effect on other biochemical parameters and it was determined that stocking density causes a tendency to increase serum albumin, globulin, creatine, urea levels and the total oxidant potential.

As a result, it was concluded that thyme essential oil addition into the diet of Japanese quails under the stocking density treatment, was more effective in alleviating the adverse effects caused by stocking density, especially in 600 mg / kg of dosage.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Tang SZ., Kerry JP., Sheehan D., Buckley DJ., Morrissey PA., 2001. Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen stored chicken meat. *Meat Science*, 57, 331-376.
2. Botsoglou NA., Grigoropoulou SH., Botsoglou E., Govaris A., Papageorgiou G., 2003. The effect of dietary oregano oil and alpha-tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science*, 65, 1193-1200.
3. Berg EP., 2001. Influence of stress on composition and quality of meat, poultry and meat products. *J Anim Sci*, 79, 204.
4. Petracci M., Fletcher DL., Northcutt JK., 2001. The effect of holding temperature on live shrink, processing yield, and breast meat quality of broiler chickens. *Poultry Sci*, 80, 670-675.
5. Qiao M., Fletcher DL., Northcutt JK., Smith DP., 2002. The relationship between raw broiler breast meat color and composition. *Poultry Sci*, 82, 422-427.
6. Van Laack RLJM., Liu CH., Smith MO., Koveday HD., 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poultry Sci*, 79, 1057-1061.
7. Qiao M., Fletcher DL., Smith DP., Northcutt JK., 2001. The effect of broiler breast meat color on Ph, moisture, water-holding capacity and emulsification capacity. *Poultry Sci*, 80, 676-680.
8. Le Bihan-Duval E., Berri C., Baeza E., Millet N., Beaumont C., 2001. Estimation of the genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with growth and body composition in an experimental broiler line. *Poultry Sci*, 80, 839-843.
9. Mallia JG., Barbut S., Vaillancourt JP., Martin SW., Mcewen SJ., 2000. A dark, firm dry- like condition in turkeys condemned for cyanosis. *Poultry Sci*, 79, 281-285.
10. Küçükyılmaz K., Kiyima Z., Akdağ A., Çetinkaya M., Atalay H., Ateş A., Bozkurt M., 2017. Effect of lavender (*Lavandula Stoechas*) essential oil on growth performance, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status of broilers. *S Afr J Anim Sci*, 47, 178-188.
11. Botsoglou NA., Florou-Paneri P., Christaki E., Fletouris DJ., Spais AB., 2002. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British Poult Sci*, 43, 223-230.
12. Jurgens MH., 1996. *Animal Feeding and Nutrition*, Dubuque, IA, Kendall.
13. SPSS, 2002. Inc. *SPSS for Windows*, Version 11.5, SPSS Inc., USA.
14. Malayoğlu HB., Altan Ö., Tüzmen MN., Çeliktaş ÖY., 2008. Yumurta tavuklarında n-3 çoklu doymamış yağ asitlerince zenginleştirilmiş karma yemlere ilave edilen kekik ve biberiye esansiyel yağlarının oksidatif stabilite, lipid metabolizması, performans ve bazı yumurta kalite kriterleri üzerine etkisi. *TOVAG Proje (106O090) Kesin Raporu*, 125.

15. Kaya A., Turgut L., 2012. Yumurtacı tavuk rasyonlarına değişik oranlarda katılan adaçayı (*Salvia officinalis*), kekik (*Thymbra spicata*), nane (*Menthae piperitae*) ekstraktları ile vitamin E'nin performans, yumurta kalitesi ve yumurta sarısı TBARS değerleri üzerine etkileri. Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg, 43, 49-58.
16. Seven İ., Seven PT., Aslan AS., Yıldız N., 2011. Farklı yerleşim sıklığında yetiştirilen Japon Bildircinlarının (*Coturnix Coturnix Japonica*) performans parametreleri üzerine rasyona katılan multienzimin etkileri. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 8, 173-180.
17. Chowdhury S., Mandal GP., Patra AK., Kumar P., Samanta I., Pradhan S., Samanta AK., 2018. Different essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. *Animal Feed Sci Tech*, 236, 39-47.
18. Aksu T., Aksu DS., Kaya DA., Duran N., Önel SE., Canoğulları S., 2012. Effects of dietary thyme (*Thymbra Spicata L.*) essential oil on performance, antioxidant status, blood characteristics and intestinal microflora of Japanese Quails. *International Animal Science Congresses Of Turkish and Relatives Communities*, 11-13 Semptember, Isparta-Turkey, 38.
19. Yörük MA., Laçın E., Hayırlı A., Yıldız A., 2008. Humat ve prebiyotiklerin farklı yerleşim sıklığında yetiştirilen Japon Bildircinlarında verim özellikleri, yumurta kalitesi ve kan parametrelerine etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 19, 15-22.
20. Fletcher DL., 1999. Poultry meat colour. In *Poultry Meat Science*, RI Richardson and GC Mead eds. *Poultry Science Symposium Series 25*, CABI Publishing, 159-175.
21. Mahmud ATBA., Afnan R., Ekastuti DR., Arief II., 2017. Blood profile, performance and meat quality of crossed kampung broiler chicken in different stocking density. *Jurnal Vet*, 18, 247-256.
22. Meluzzi A., Fabbri C., Folegatti E., Sirri F., 2008. Effect of less intensive rearing conditions on litter characteristics, growth performance, carcass injuries and meat quality of broilers. *British Poult Sci*, 49, 509-515.
23. Zhang YR., Zhang LS., Wang Z., Liu Y., Li FH., Yuan JM., Xia ZF., 2018. Effects of stocking density on growth performance, meat quality and tibia development of Pekin ducks. *Anim Sci J*, 89, 925-930.
24. Castellini C., Mugnai C., Dal Baco A., 2002. Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. *Meat Sci*, 60, 219-225.
25. Goo D., Kim JH., Choi HS., Park GH., Han GP., Kil DY., 2018. Effect of stocking density and sex on growth performance, meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens. *Poultry science*.



Preparation of Internal Genital Organs of Adult Cows by S10B Silicone Plastination Method

Remzi Orkun AĞÜN^{1a}, Okan EKİM^{1b}, Caner BAKICI^{1c}✉, Burcu İNSAL^{1d}, Muharrem AYVALI^{1e}, İsmail Önder ORHAN^{1f}, Çağdaş OTO^{1g}, Alexander ATANASOFF^{2h}

1. Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Ankara, Turkey

2. Trakia University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition, Stara Zagora, Bulgaria

ORCID: 0000-0001-6648-7059^a, 0000-0002-3322-4161^b, 0000-0003-2413-3142^c, 0000-0003-3354-6424^d, 0000-0001-5738-2183^e, 0000-0003-3006-4657^f, 0000-0002-2727-3768^g, 0000-0003-3460-9589^h

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
23.01.2019	29.05.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Ağün RO, Ekim O, Bakıcı C, İnsal B, Ayvalı M, Orhan İÖ, Oto Ç, Atanasoff A: Preparation of Internal Genital Organs of Adult Cows by S10B Silicone Plastination Method. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 14(2): 137-141, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.516997

Abstract: It is essential to demonstrate organs and their structures practically in anatomy education. Plastination is an anatomical technique that has been used to prepare biological specimens for educational purposes. It is a gradual process by replacement of fluids in biological tissues with reactive polymers such as silicone, epoxy or polyester resin. This study was aimed to plastinate the internal genital organs of adult cows by S10B silicone plastination method. Ten internal genital organs of cows were plastinated to be used in veterinary undergraduate teaching/practices. After dissection and fixation, the specimens were plastinated with S10B plastination method and colour differentiation of the organ parts were measured. The plastination process was completed with dehydration, defatting, impregnation, and gas curing stages, respectively. It was observed that the plastination of specimens with S10B plastination method preserve normal anatomy of genital organs. It was estimated that all parts of uterus became greenish and bluish colour and the value of the brightness of uterus was increased. The tissue shrinkage was reduced considerably when dehydration was carried out in a cold environment. It was concluded that S10B plastination method can be easily used to prepare the specimens of genital organs to be used in veterinary teaching.

Keywords: Anatomy, Female genital organs, Gynaecology, S10B silicone plastination.

S10B Silikon Plastinasyon Yöntemi ile Erişkin İneklerin İç Genital Organlarının Hazırlanması

Öz: Anatomi eğitimi sırasında, organları ve bu organların yapılarını uygulamalı olarak göstermek oldukça önemlidir. Plastinasyon, biyolojik örneklerin eğitim amacı ile hazırlanılarak kullanılmakta olan anatomik bir tekniktir. Biyolojik dokulardaki sıvıların silikon, epoksi veya polyeşter reçine gibi reaktif polimerler ile değiştirilmesi sonucunda gerçekleşen aşamalı bir işlemdir. Bu çalışmada, yetişkin ineklerin iç genital organlarının S10B silikon plastinasyon yöntemi ile plastine edilmesi amaçlanmıştır. Veteriner hekimlik lisans öğretimi ve uygulamalarında kullanılmak üzere 10 adet ineğe ait iç genital organlar plastine edildi. Diseksiyon ve tespit işleminden sonra, örneklere S10B plastinasyon yönteminin diğer önemli aşamaları uygulandı ve organ bölümlerine ait renk değişimleri kantitatif olarak hesaplandı. Plastinasyon işlemleri sırasıyla, dehidrasyon, yağdan arındırma, zorla impregnasyon ve gazla kütleme - sertleştirme aşamaları ile tamamlandı. S10B plastinasyon yöntemi ile plastine edilen örneklerin normal anatomik yapısını koruduğu gözlemlendi. Uterus'a ait tüm bölümlerin yeşilimsi ve mavimsi bir renk haline geldiği ve uterus'un parlaklık değerinin arttığı belirlendi. Soğuk ortamda dehidrasyon gerçekleştirilmesi ile doku büzüşmesi önemli ölçüde azaldığı belirlendi. Veteriner hekimlik eğitiminde kullanılacak olan genital organ örneklerini hazırlamak için S10B plastinasyon yönteminin kolaylıkla kullanılabilceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, Diş genital organlar, Jinekoloji, S10B silikon plastinasyon.

✉ Caner Bakıcı

Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Ankara, TURKEY.
e-mail: vetcanerbakici@gmail.com

INTRODUCTION

Consideration of reproductive performance of animal is important in veterinary science as it affects the economy of country. Seeing the importance of reproduction, researches are focused on reproductive organs of large ruminants. Clinicians or technicians may encounter various complications because of insufficient clinical or anatomical knowledge of reproductive organs during performing the artificial insemination in animals (1). It is essential to demonstrate organs and its structures practically in anatomy education. In these fields, dissected cadavers are necessary but recent years modern techniques have come front (2). Moreover, formaldehyde, which is frequently used in the fixation of tissues and organs in anatomy education, is highly harmful to human health (3). At that point plastination, the most advanced and modern anatomical technique to prepare nature-identical specimens may be useful and effective than the classical methods (3,4).

Plastination is an anatomical technique that has been frequently used to prepare biological specimens for educational purposes (5,6). This technique was firstly introduced by Professor Gunther von Hagens at the University of Heidelberg in 1977 (7,8,9). Plastination is a gradual process based on the long-term preservation of tissues by replacement of fluids in biological tissues with reactive polymers such as silicone, epoxy or polyester resin (10,11). Plastination is used for conservation of biological tissues (whole body, brain, liver, lungs, kidney, heart, muscles, joints, complex cadavers or sections of certain areas, etc.) for years without deformation. The tissue becomes dry and non-hazardous by the help of different polymers (7,12). Specimens, prepared with this technique, are elastic, durable, odourless, nature-identical and non-hazardous (13,14). Due to these properties, many anatomists prefer plastination method instead of other preservation methods. In addition, many studies have indicated that plastinated specimens are convenient for education and can meet the

expectations of students (15). Plastinates have already being used for better understanding and comprehension of various anatomic structures in anatomy. Furthermore, plastinates might play an extremely active role in clinics especially focused on obstetrics-gynaecology and artificial insemination (4,16).

The study was carried out to prepare the nature-identical specimen of female genital organs for the use in teaching of artificial insemination and obstetrics courses. The study was also helpful to standardize the silicone plastination protocols for the preparation of anatomical specimens of female genital organs.

MATERIALS and METHODS

Internal genital organs of 10 adult Holstein cows were obtained from the slaughterhouse. The study was approved by Ankara University Animal Experiments Local Ethics Committee (Decision no: 2017-13-107). The organs were carefully dissected and fixed in 4% formalin solution for 10 days. The dehydration was carried out at -20 °C with 99.5% acetone bath. Three consecutive changes were given in acetone. The mass ratio of the acetone to the organs was kept 10:1. The concentration of acetone was monitored in each change. In the last change of acetone, the acetone concentration was 99.1%. After complete dehydration, the organs were defatted using pure acetone for 5 days at room temperature. Subsequently, forced impregnation was carried out in a vacuum tank at -20 °C using S10B silicone polymer and S3 catalyser. The ratio of silicone polymer and catalyser was 100:1. Complete impregnation of genital organs was monitored by observing the acetone bubbles on the surface of silicone filled vacuum tank. When the impregnation was completed, no bubbles were observed on the surface of silicone. Finally, the gas curing was done with S6 for hardening of specimens. The final products were stored in dehumidified air-tight bags (Fig. 1).

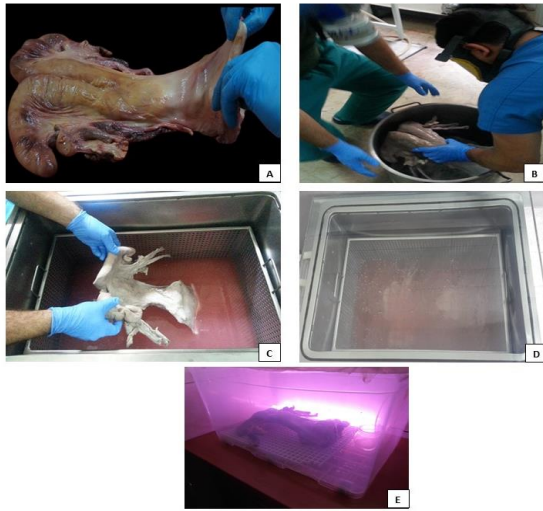


Figure 1. Different stages of silicone plastination method: dissection and preparation of specimens for fixation (A), dehydration stage (B), forced impregnation stage (C), the acetone bubbles that appear on the surface of the silicone polymer in the vacuum tank (D), gas curing and hardening stage (E).
Şekil 1. Silikon plastinasyon yönteminin farklı aşamaları: örneklerin diseksiyon ve fiksasyona hazırlanması (A), dehidrasyon aşaması (B), zorlu impregnasyon aşaması (C), vakum tankındaki silikon polimeri yüzeyinde gözükken aseton kabarcıkları (D), gaz kütleme ve sertleştirme aşaması (E).

The colour differentiation of the parts of the uterus (uterine horn, body and cervix) was measured using the CR-400 Minolta portable colorimeter (The Konica Minolta Chroma Meter CR-400, Tokyo, Japan). Colour alterations were quantitatively evaluated using the colour data software (SpectraMagic NX, Tokyo, Japan). The colour measurements were performed on fresh organs and their plastinated samples. The brightness (dL), the change between the blue and yellow colour (da) and the change between green and red colour (db) were evaluated.

RESULTS

In this study the specimens of internal genital organs of adult Holstein cows were prepared by silicone (S10B) plastination method for the use in anatomy teaching and clinical courses. These specimens retained their natural anatomical

structures (Fig. 2). For complete dehydration 3 consecutive changes were given in acetone bath. When the dehydration was carried out at low temperature, the shrinkage of tissues was considerably reduced. Defatting process increased the quality of the final product, by reducing the fat surrounding the local vessels and nerves. The quantitative data of the differentiation of the specimen colours were given in Table 1. Additionally, the colour differentiation scale of one of the uterus was indicated in Figure 3.



Figure 2. Plastinated internal genital organs of cows; uterine horn (a), uterine body (b), cervix (c), vagina (d), external orifice (e), ovary (f), ovarian ligament (g), ovarian bursa (h), ovarian artery (i), ovarian vein (j), suspensory ligament of ovary (k)

Şekil 2. İneklerin plastine edilmiş iç genital organları; cornu uteri (a), corpus uteri (b), cervix uteri (c), vagina (d), ostium uteri externum (e), ovarium (f), ligamentum ovari (g), bursa ovarica (h), a. ovarica (i), v. ovarica (j), ligamentum suspensorium ovari (k)

Table 1. The mean and standard deviation values of the colour differentiation measurements of the parts of the uterus.

Tablo 1. Uterus bölümlerinin renk farklılaşma ölçümlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

Measurement	Uterine Horn	Uterine Body	Cervix
dL	6.45 ± 1.4	7.45 ± 2.86	10.38 ± 1.64
da	-6.39 ± 1.81	-7.32 ± 1.48	-8.13 ± 1.42
db	-4 ± 1.9	-6.24 ± 3.22	-5.23 ± 2.04

dL: the brightness; da: the change between the blue and yellow colour; db: the change between green and red colour.

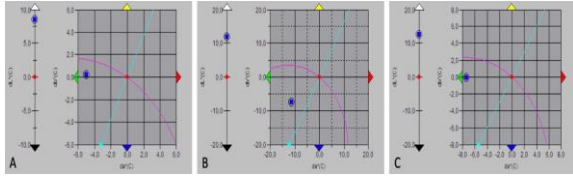


Figure 3. The colour differentiation scale figures of the parts of the uterus; A: Uterine horn, B: Uterine body, C: Cervix.

Şekil 3. Uterus bölümlerine ait renk değişim skalası; A: Cornu uteri, B: Corpus uteri, C: Cervix uteri.

DISCUSSION and CONCLUSION

Although it has been stated that the fixation of tissue in Kaiserling I solution preserves the natural colour of the organ (4,17), in this study the change of the specimen colour was evaluated with the use of pigmented silicone polymer and regular formaldehyde fixation. It was estimated that all parts of the uterus became greenish and bluish colour. The value of the brightness of the uterus was increased. The colour differentiation of the uterine horn was much less than other parts.

The acetone bath at cold temperature instead of room temperature was helpful to reduce the shrinkage of final product (12,18). Ekim et al. (19,20) reported that defatting process after dehydration increased the quality of the final product. Sivagnanam et al. (4,17) reported that the use of polyester or epoxy resin for the impregnation instead of silicone polymer would reduce the cost. But the use of silicone polymer reduces the shrinkage of tissue; maintain the natural colour and anatomy, thus make the better quality of specimens. Although silicone polymer is more expensive, it was observed that the chemicals of the plastination process did not lose their properties and can be used in the future applications. Suganthy and Francis (12) were stated that silicone polymer is an efficient chemical that causes minimum loss per sample.

In the previous studies (13,14), it has been indicated that the plastinated specimens were odourless, elastic, durable and harmless for human health. It is thought that plastinated samples

prepared in this study had the same features. However, we plan to carry out some quantitative analysis of the plastinated samples about their elasticity and durability qualities in future studies.

Consequently, it is concluded that the specimens prepared by silicone plastination method can be used as an alternative to fresh organs/tissues in anatomy and clinical educations. It is thought that the protocols defined in this study may be reference to plastination studies on the mammal genital organs to be performed in future.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Thibier M., Wagner HG., 2002. World statistics for artificial insemination in cattle. *Livest Prod Sci*, 74, 203-212.
2. Oto C., Bakici C., Insal B., Yilmaz B., Ozen D., 2018. Evaluation of the acceptability of fresh dog cadavers in anatomy education. *Indian J Anim Res*, 808, 1-5.
3. Ramos ML., De Paula TAR., Zerlotini MF., Silva VHD., Carazo LB., De Paula MF., Silva FFR., Santana ML., Silva LC., Ferreira LBC., 2018. A comparison of different de-plastination methodologies for preparing histological sections of material plastinated with Biodur® S10/S3. *J Int Soc Plastination*, 30, 10-15.
4. Sivagnanam S., Balasundaram K., Selvaraju M., Ravikumar K., Kumaravel A., Paramasivan S., 2014. The polyester resin plastination as a tool for making permanent dry specimens for teaching gynaecology. *AJST*, 5, 185-186.
5. Riederer BM., 2014. Plastination and its importance in teaching anatomy. *Critical points for long-term preservation of human tissue. J Anat*, 224, 309-315.
6. Estai M., Bunt S., 2016. Best teaching practices in anatomy education: A critical review. *Ann Anat*, 208, 151-157.

7. Ottone NE., Cirigliano V., Bianchi HF., Medan CD., Algeri RD., Brum GB., Fuentes R., 2015. New contributions to the development of a plastination technique at room temperature with silicone. *Anat Sci Int*, 90, 126-135.
8. Ottone NE., Del Sol M., Fuentes R., 2016. Report on a sheet plastination technique using commercial epoxy resin. *Int J Morphol*, 34, 1039-1043.
9. Ottone NE., Vargas CA., Veuthey C., Del Sol M., Fuentes, R., 2018. Epoxy sheet plastination on a rabbit head—new faster protocol with Biodur® E12/E1. *Int J Morphol*, 36, 441-446.
10. Steinke H., Rabi S., Saito T., Sawutti A., Miyaki T., Itoh M., Spanel-Borowski K., 2008. Light-weight plastination. *Ann Anat*, 190, 428-431.
11. Pashaei S., 2010. A brief review on the history, methods and applications of plastination. *Int J Morphol*, 28, 1075-1079.
12. Suganthi J., Francis DV., 2012. Plastination using standard S10 technique—Our experience in Christian Medical Collage, Vellore. *J Anat Soc India*, 61, 44-47.
13. Kumro SL., Crocker AV., Powell RL., 2013. Injection plastination: A low-tech, inexpensive method for silicone preservation of small vertebrates. *J Int Soc Plastination*, 25, 12-17.
14. Gonzalez M., Ortiz J., Latorre R., 2017. S10 Plastination technique for preservation of parasites: the case of *Oestrus ovis* larvae. *J Int Soc Plastination*, 29, 5-10.
15. Latorre RM., Garcia-Sanz MP., Moreno M., Hernandez F., Gil F., Lopez O., Ayala MD., Ramirez G., Vazquez JM., Arencibia A., Henry RW., 2011. How useful is plastination in learning anatomy? *JVME*, 34, 172-176.
16. Chapman SJ., Hakeem AR., Marangoni G., Prasad KR., 2013. Anatomy in medical education: Perceptions of undergraduate medical students. *Ann Anat*, 195, 409-414.
17. Sivagnanam S., Balasundaram K., Selvaraju M., Ravikumar K., Kumaravel A., Paramasivan S., 2014. The epoxy resin plastination of reproductive organs of animals. *AJST*, 5, 181-182.
18. Brown MA., Reed RB., Henry RW., 2002. Effects of dehydration mediums and temperature on total dehydration time and tissue shrinkage. *J Int Soc Plastination*, 17, 28-33.
19. Ekim O., İnsal B., Bakıcı C., Hazıroğlu RM., Akgün RO., 2014a. Yılanlarda Soğuk Ortam Tekniği ile Tüm Vücut Silikon Plastinasyonu. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 1, 1-14.
20. Ekim O., Tunalı S., Hazıroğlu RM., Ayvalı M., 2014. Evcil memeli hayvanlarda böbreklerin soğuk ortam tekniği ile silikon plastinasyonu. *Vet Hekim Der Derg*, 85, 1-11.



Effect of Using Odourless Fish Oil on Some Physical, Chemical and Sensorial Properties of Blackberry Fruit Yoghurt*

Nazlı TÜRKMEN^{1a}✉, Ebru ŞENEL^{1b}, Ceren AKAL^{1c}

1. Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology, Ankara, TURKEY.
ORCID: 0000-0002-4219-8903^a, 0000-0003-0797-621X^b, 0000-0002-0441-541X^c

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
12.03.2019	11.06.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Turkmen N, Senel E, Akal C: Effect of Using Odourless Fish Oil on Some Physical, Chemical and Sensorial Properties of Blackberry Fruit Yoghurt. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 142-150, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.538769

Abstract: Omega-3 fatty acids (α -linolenic acid-ALA, eicosapentaenoic acid-EPA and decosahexaenoic acid-DHA) are essential for humans. Especially EPA and DHA reduce the risk of death related with cardiovascular diseases, prevent many other diseases and fortify the immune system. Sufficient EPA and DHA can be intaken by consuming only seafood. According to the World Health Organization, the required EPA+DHA is 0.3-0.5 g/day for healthy people. But people having cardiovascular diseases should consume 1 g/day EPA+DHA according to the American Heart Association. The requirement of Omega-3 fatty acids is 650 mg per day in pregnancy and at least 300 mg should be DHA. In this study, it was aimed to enrich the product with Omega-3 by using odourless fish oil at different rates (0.3%, 0.5% and 1.0%) in the production of blackberry yoghurt. pH, titratable acidity values, fat, total dry matter and lactic acid contents, acid and peroxide values, viscosity and sensory properties of the samples were investigated. According to the results, there was no significant difference in physical and chemical properties of the fruit yoghurt except peroxide values ($P>0.01$). In sensory analysis, blackberry fruit yoghurt samples having 0.3% and 0.5% odourless fish oil were ranked as acceptable by the panelists. The daily requirement of EPA+DHA can be supplied by consuming approximately 250 g of the sample containing 0.3% of odourless fish oil and approximately 150 g of the sample containing 0.5%.

Keywords: DHA, EPA, Fish Oil, Fruit Yoghurt, Omega-3 fatty acids.

Kokusuz Balık Yağı Kullanımının Böğürtlenli Yoğurdun Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi

Öz: Omega-3 yağ asitleri (α -linolenik asit-ALA, eikozapentaenoik asit-EPA ve dekosahexaenoik asit-DHA) insanlar için esansiyeldir. Özellikle EPA ve DHA, kardiyovasküler hastalıklarla ilgili ölüm riskini azaltmakta, diğer birçok hastalığı önlemekte ve bağışıklık sistemini güçlendirmektedir. Yeterli EPA ve/veya DHA sadece deniz ürünleri tüketimi ile karşılanabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, sağlıklı insanlar için gerekli EPA+DHA 0.3-0.5 g/gün'dür. Ancak kardiyovasküler hastalıkları olan insanlar, Amerikan Kalp Derneği'ne göre 1 g/gün EPA+DHA tüketmelidir. Omega-3 yağ asitleri gereksinimi gebelikte ise günde 650 mg'dır ve bunun en az 300 mg'ının DHA olması gerektiği belirtilmektedir. Bu çalışmada, böğürtlenli yoğurt üretiminde farklı oranlarda (%0.3, %0.5 ve %1.0) kokusuz balık yağı kullanılarak, ürünün Omega-3 bakımından zenginleştirilmesi hedeflenmiştir. Örneklerin pH, titrasyon asitliği değerleri, yağ, kurumadde ve laktik asit içerikleri, asit ve peroksit değerleri, viskozitesi ve duysal özellikleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, örneklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinde peroksit değerleri dışında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($P>0.01$). Duyusal analiz sonuçlarına göre, %0.3 ve %0.5 kokusuz balık yağı bulunan böğürtlen meyveli yoğurt örnekleri panelistler tarafından kabul edilebilir olarak nitelendirilmiştir. Kokusuz balık yağını %0.3 oranında içeren örnekten yaklaşık 250 g, %0.5 oranında içeren örnekten ise yaklaşık 150 g tüketilmesi ile günlük EPA+DHA ihtiyacının karşılanması mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Balık yağı, DHA, EPA, Meyveli yoğurt, Omega-3 yağ asitleri.

✉ Nazlı Turkmen

Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology, Ankara, TURKEY.
e-mail: nazli.turkmen@ankara.edu.tr

*This study was prepared from the master thesis conducted in Ankara University Graduate School of Natural and Applied Sciences and the results of the study were presented in "Novel Sources for Omega-3 for Food and Feed", 14-15 November 2012, Copenhagen, Denmark.

INTRODUCTION

In recent years, the production and consumption of functional foods have been increasing because of beneficial health effects. The Omega-3 fatty acids are some examples to essential fatty acids and they are ALA (α -linolenic acid), EPA (eicosapentaenoic acid) and DHA (docosahexaenoic acid) (1). ALA can be supplied from some green plant tissues especially flaxseed, nuts and rapeseed (2) but EPA and/or DHA can be supplied only from sea foods (3). Generally, the Omega-3 fatty acids have beneficial properties, especially EPA and DHA reduce the risk of death connected to cardiovascular diseases (4-6). According to a research which is focused on the effects of Omega-3 fatty acids on cardiovascular diseases; the deaths caused by cardiovascular diseases are decreased by consuming fish, especially oily fish, twice a week (7). These two fatty acids prevent atherosclerosis, necrosis, stroke, migraine, allergic asthma, arthritis, diabetes, hypertension and strengthen the immune system. They also have beneficial effects against various intestinal and skin diseases, are protective against plenty of tumoral diseases, and they have therapeutic properties (8-10). The Omega-3 fatty acids are also closely related with Alzheimer's disease. The Alzheimer's disease is rarely seen in Japan and this is related to high Omega-3 fatty acids taken with fish based Japanese daily diet (11). Also, the depression cases were higher in New Zealand where average fish consuming is 20 g/day with 5.8% depression rate when compared to Korea where average fish consuming is 50 g/day with 2.8%. The fish consumption is 100 g/day per person in Japan therefore the depression cases are seen only at a rate of 0.12% (12).

According to the World Health Organization (WHO) and North Atlantic Treaty Organization (NATO) to take sufficient EPA+DHA, healthy people should consume fish twice a week and it is equal to 0.3-0.5 g/day EPA+DHA (7). According to the American Heart Association, the requirement of

EPA+DHA is 1 g/day for people who have cardiovascular diseases and 2-4 g/day for people who have high levels of triglyceride (11).

Pregnants should consume 650 mg Omega-3 fatty acids per day and at least 300 mg of them should be DHA. Taking high levels of Omega-3 fatty acids during pregnancy provides the improvement in mathematical intelligence and the abilities of reading and writing in childhood (13). On the other hand, taking low levels of Omega-3 fatty acids during pregnancy causes behavioural disorder, sleep disturbance and hyperactivity (9). The sea foods taking part in daily diet of children is quite important as they contain high levels of essential fatty acids which are necessary for the child's development (14). The retina, central nervous system, mathematical intelligence, reading, writing and pronunciation abilities improve with fish oil consumption in children (13,15,16).

Yoghurt rich in carbohydrate, protein, fat, vitamin, calcium and phosphorus has an important role in daily diet (17). There are many scientific data about regular consumption of yoghurt having a role in immune systems getting strong (18). To consume about two cups (approximately 400 gram) of yoghurt is enough to provide half of the daily calcium requirement for an adult (19). Yoghurt is an important milk product for the improvement of bones in children and it prevents osteoporosis in adults. Also, calcium intake in high levels has a role in protection against colon and rectum cancer (20). Digestion of yoghurt is easier than non-fermented dairy products. Especially, lactose intolerant people do not have the ability to digest lactose in non-fermented milks but they can consume yoghurt easily (17,21). Therefore, yoghurt has an important role in nutrition and it must have a place in daily diet in all ages.

Consumption of plain set type yoghurt is higher than fruit yoghurt in Turkey. However, fruit yoghurt consumption has been increasing lately especially by

children and young people. There are several research about yoghurt to be well-liked by the public with calcium, whey protein concentrate, inulin etc (22-24). There are also several other research about enriched yoghurt with Omega-3 fatty acids because of the beneficial effects of Omega-3 besides yoghurts natural beneficial effects (25-30).

The main purpose of this study is to provide the consumption of more Omega-3 fatty acids with fruit yoghurt by people needing more Omega-3 fatty acids; especially by children, pregnant women and people having cardiovascular diseases. For this purpose, odourless fish oil was used in yoghurt production. In the preliminary study, all of the panelists were able to sense the fishy taste and aroma of plain set type yoghurt even for the lowest concentration of odourless fish oil. Therefore the fruit extract was preferred in stirred type of yoghurt production. Different fruit extracts like blackberry, strawberry, apricot, raspberry and red berries extracts were used in the preliminary study and the yoghurt sample with blackberry fruit extract had the highest scores by the panelists. Therefore, blackberry fruit extract was used in fruit yoghurt production in the study. Different rates of odourless fish oil (0.3%, 0.5%, 1%) was added to the blackberry yoghurt samples and some chemical, physical and sensory attributes of the final product was investigated during 15 days of storage period.

MATERIALS and METHODS

Materials

Raw milk used for the production of yoghurt samples was obtained from Ankara University, Haymana Research and Application Farm, Turkey. Thermophilic yoghurt starter culture CH-1 (Chr. Hansen, Denmark), 99.9% pure odourless fish oil containing 160 mg/g of EPA and 100 mg/g of DHA (ASUKA Kim. San. Tic. A.Ş., Turkey), blackberry fruit extract (Yörsan A.Ş., Turkey) and milk powder with 95% dry matter (İzi Süt A.Ş., Turkey) were used in the production of blackberry yoghurt samples.

Production of Fruit Yoghurts

The raw milk was separated into four equal parts and total fat content (milk fat+odourless fish oil) of milk was standardized to 3%. The first part was the control sample (A) having ~3% only milk fat, the other three parts; B, C and D samples having 2%, 2.5% and 2.7% milk fat and 1%, 0.5% and 0.3% odourless fish oil respectively (Table 1).

Table 1. Sample codes and descriptions of the blackberry fruit yoghurt samples.

Tablo 1. Böğürtlenli yoğurt örneklerinin kodları ve tanımlamaları.

Sample code	Sample description
A	Control sample (blackberry yoghurt - 3% milk fat)
B	Blackberry yoghurt - 2% milk fat + 1% odourless fish oil
C	Blackberry yoghurt - 2.5% milk fat + 0.5% odourless fish oil
D	Blackberry yoghurt - 2.7% milk fat + 0.3% odourless fish oil

The cream was separated from raw milk after milk was pre-heated to 40-50°C. The cream was added to the samples in appropriate amounts as explained above. After the total dry matter of the samples was standardized to 16% with milk powder, they were homogenized in 150-200 bar pressure. When addition of odourless fish oil was applied before homogenization, the fishy taste was more appreciable due to increase of the surface area of fat globules. Therefore, odourless fish oil was added to the samples after homogenization in suitable amounts as explained above and the samples were pasteurized in 85°C /15 min. The starter culture (3%) was added to the samples after they cooled to 43-45°C and then they were incubated in 43-45°C. The incubation was ended in ~4.6-4.7 pH and the samples were cooled to 20-30°C immediately. After addition of the blackberry fruit samples and blending, the samples were stored at +4°C. Steps of the fruit yoghurt samples production are given in Figure 1.

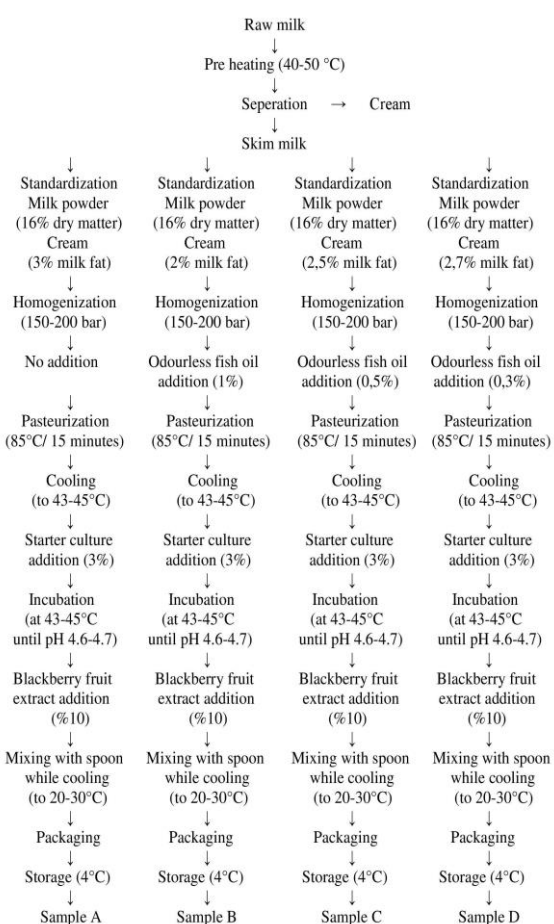


Figure 1. Steps of the blackberry fruit yoghurt samples production.

Şekil 1. Böğürtlenli yoğurt örneklerinin üretim basamakları.

The production of yoghurt samples were repeated three times. Physical, chemical and sensory analysis were performed on the 1st, 7th and 15th days of storage. Fat and dry matter contents of the samples were determined only on the 1st day and all the analysis were repeated three times in each production.

Chemical Analysis

Fat content of the samples were determined by Gerber method on the 1st day of storage (31). Total dry matter content of the samples were determined by oven drying method on the 1st day of storage (31). pH values of the samples were measured by a pH meter-model Mettler Toledo (Analytical, Sonnerbergstasse 74, CH-8603, Switzerland) on the

1st, 7th and 15th days of storage. Titratable acidity of the samples was detected by titration method on the 1st, 7th and 15th days of storage. The results were calculated as Soxhlet-Henkel (°SH) (32). Lactic acid content of the samples was measured by spectrophotometric method (33). For this purpose, 25 g of yoghurt sample was mixed with 10 mL of barium chloride, 10 mL of 0.66 N sodium hydroxide and 5 mL zinc sulfate solution and the mixture was filtered through the Whatman 42 filter paper. 0.15 ml of the filtrate and 1 ml of the color solution were added to 10 ml of distilled water then the sample was read at 400 nm in spectrophotometer.

Determination of Acid and Peroxide Values

First, the milk fat extraction were performed from yoghurt samples (34). For this purpose, 250 g of yoghurt was filtered by crude filter during 2 hours in refrigerator, then the concentrated yoghurt sample was squashed with kieselguhr until it become a dry structure. The samples were washed 2-3 times with diethyl ether so the milk fat was dissolved in ether and then it was removed from the fat in rotary evaporator. Acid and peroxide value determinations were made in milk fat samples according to the method described by Downey (35). The acid value of the samples was determined by the titration method and peroxide value determination was made by spectrophotometric method.

Viscosity

Viscosity of the samples were measured using HAAKE brand VT 181/VTR 24 model viscosimeter at +4°C. Measurements were read in grade 1 and the results were calculated according to the formula:

$$\text{Viscosity (cP)} = \text{Measurement} \times \text{Grade} \times 100$$

(Probe constant)

Sensory Evaluation

Flavor, structure properties and acceptability of the samples were evaluated with multiple comparison analysis by 15 panelists (36).

Statistical Analysis

pH value, titratable acidity, lactic acid, acid and peroxide values and viscosity of the samples were evaluated by repeated measurement ANOVA. There were three levels as 1st, 7th and 15th days of storage factor and four levels as A,B,C and D of sample factor in research. Repeated measurements were analysed in levels of storage factor. The statistical differences in dry matter and fat content between sample means were analysed by variance analysis. DUNCAN test was used to determine the difference among samples. The analysis were calculated by IBM SPSS Statistics 20 and multiple comparison were calculated by Mstat c package program.

RESULTS and DISCUSSION

Some properties of the raw milk used in the production of samples were detected. According to the results, fat content of the raw milk was determined to be 3.37 ± 0.07 g/100 g, non-fat dry matter content was 10.00 ± 0.00 g/100 g, pH value was 6.85 ± 0.06 and the titratable acidity was determined to be 7.37 ± 0.16 °SH.

Total dry matter and fat content of the control sample (A) and the other samples which have different levels of odourless fish oil (B, C, D) are given in Table 2.

Table 2. Total dry matter and fat content of the blackberry fruit yoghurt samples (n=3).

Tablo 2. Böğürtlenli yoğurt örneklerinin toplam kurumadde ve yağ içerikleri (n=3).

Sample	Total dry matter (g.100g ⁻¹)	Fat (g.100g ⁻¹)
A	15.71 ± 0.085	2.85 ± 0.050
B	15.57 ± 0.379	2.85 ± 0.050
C	15.22 ± 0.365	2.95 ± 0.050
D	15.45 ± 0.241	2.95 ± 0.050

The differences in total dry matter and fat content of yoghurt samples were not statistically significant ($P>0.01$) since the yoghurt milk was standardized.

pH and titratable acidity values, lactic acid contents, acid and peroxide values of the samples are given in Table 3.

Table 3. pH and titratable acidity values, lactic acid contents, acid and peroxide values of the blackberry yoghurt samples (n=3).

Tablo 3. Böğürtlenli yoğurt örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri, laktik asit içerikleri, asit ve peroksit değerleri (n = 3).

Sample	Storage (day)	pH value	Titratable acidity (°SH)	Lactic acid content (g.100g ⁻¹)	Acid value (mg KOH/g oil)	Peroxide value (mEq O ₂ /kg oil)
A	1	4.11 ± 0.065	48.20 ± 0.209	0.37 ± 0.016	9.10 ± 1.020	2.80 ± 0.788 ^{Ac}
A	7	4.09 ± 0.074	50.05 ± 0.834	0.42 ± 0.021	10.26 ± 0.679	8.14 ± 0.416 ^{Ac}
A	15	4.07 ± 0.060	54.27 ± 0.567	0.45 ± 0.029	9.78 ± 0.139	3.64 ± 2.150 ^{Ac}
B	1	4.18 ± 0.017	46.17 ± 2.320	0.34 ± 0.013	7.00 ± 0.546	72.80 ± 1.920 ^{Aa}
B	7	4.14 ± 0.046	49.25 ± 1.410	0.38 ± 0.037	6.88 ± 1.080	46.10 ± 3.13 ^{Ba}
B	15	4.11 ± 0.029	53.68 ± 1.710	0.42 ± 0.009	6.72 ± 0.430	44.97 ± 0.755 ^{Ba}
C	1	4.17 ± 0.018	45.31 ± 2.060	0.36 ± 0.018	8.25 ± 1.300	25.89 ± 0.556 ^{Ab}
C	7	4.12 ± 0.034	47.92 ± 0.906	0.37 ± 0.018	7.83 ± 0.253	24.67 ± 0.955 ^{Ab}
C	15	4.09 ± 0.021	52.31 ± 1.440	0.39 ± 0.016	11.18 ± 0.310	31.53 ± 4.630 ^{Ab}
D	1	4.18 ± 0.003	46.32 ± 1.490	0.37 ± 0.016	8.46 ± 1.320	7.84 ± 1.500 ^{Ac}
D	7	4.12 ± 0.040	48.67 ± 0.809	0.37 ± 0.027	9.16 ± 3.000	18.17 ± 2.410 ^{Abc}
D	15	4.10 ± 0.024	53.44 ± 0.934	0.39 ± 0.009	11.21 ± 0.582	10.76 ± 4.000 ^{Ac}

Within the storage days, values with different uppercase letters (A, B) are significantly different ($P<0.05$).

Within the samples, values with different lowercase letters (a, b, c) are significantly different ($P<0.01$).

pH value of the control sample was slightly lower than pH of the other samples, but the difference is not statistically important ($P>0.05$). However, the changes in pH value of the samples during the storage period was statistically important ($P<0.01$). The pH value of samples were decreased during storage period because of accumulation of lactic acid (37). These results were in accordance with the literature (38,39).

The differences among titratable acidity of samples was not statistically important ($P>0.05$), but during the storage period titratable acidity of samples increased. Also, many researches referred to the same results (24,38,40).

Lactic acid is one of essential compounds in yoghurt, responsible for the characteristic sharp and acidic flavour. The lactic acid levels of blackberry yoghurt samples were determined to be between 0.36-0.45 g.100g⁻¹. Addition of odourless fish oil did not effect the lactic acid content of yoghurt samples ($P>0.05$). However, the changes in the lactic acid levels of samples during storage period were found to be statistically important ($P<0.01$). Lactic acid content of all samples have increased during the storage. Similar results were obtained by some researchers (41,42).

No statistical difference was found in acid degree values neither among samples nor on different days of storage ($P>0.01$). Thus, addition of odourless fish oil did not effect acid degree values of the samples.

The differences between control sample and odourless fish oil added samples with respect to peroxide value was statistically important ($P<0.01$). The change in peroxide value of Sample B was statistically important ($P<0.05$) during the storage period but that of the other samples' were not. Also an interaction was found between the samples and storage period ($P<0.01$). Sample B had the highest peroxide value and the control sample had the lowest. This result arise from the differences of fatty acid composition of fish oil which has high amount of unsaturated fatty acids. Similar results were also

obtained in a research on milk emulsions fortified with fish oil (8). Peroxide values of the odourless fish oil added samples were detected in high amounts although panelists did not state any oxidized taste during the sensory evaluation. Oxidized taste of the yoghurt samples may have been masked due to the blackberry fruit extract.

The use of odourless fish oil did not effect the viscosity of samples but control sample had higher viscosity than that of fish oil added samples. Viscosity values of all samples increased on the 7th day of storage but then decreased on the 15th day. Finally the viscosity value of samples were not importantly changed on the 15th day of the storage compared to the 1st day and this changes in viscosity of all samples during storage period was not found to be statistically important ($P>0.05$). The viscosity values of the yoghurt samples are given in Table 4.

Table 4. Viscosity values of the blackberry fruit yoghurt samples (n=3).

Tablo 4. Böğürtlenli yoğurt örneklerinin viskozite değerleri (n = 3).

Sample	Storage (day)	Viscosity (cP)
A	1	783 ± 109.0
A	7	900 ± 0.0
A	15	750 ± 28.9
B	1	767 ± 66.7
B	7	850 ± 76.4
B	15	750 ± 50.0
C	1	717 ± 60.1
C	7	800 ± 57.7
C	15	733 ± 44.1
D	1	767 ± 66.7
D	7	850 ± 76.4
D	15	750 ± 28.9

Panelists could not perceive any difference between the sample that had the lowest (0.3%) odourless fish oil (D) and control sample (A) on the 1st day of storage. Sample C, which had 0.5% odourless fish oil, was stated to be less tasty when compared to sample A by 12 of the panelists. Sample B having the maximum odourless fish oil was

evaluated less tasty than sample A by all of the panelists.

On the 7th day of storage, sample D was indicated almost the same as sample A by 10 of panelists while the other 5 pointed out sample D as more tasty than sample A. Sample C was perceived as less tasty than the control sample by 11 of panelists and 4 of the panelists could not find any differences between the samples. In this period, similar to the evaluation results on 1st day of storage, Sample B was also less tasty than sample A according to all of the panelists on the 7th day of storage.

Sample B, C and D were perceived quite similar to sample A with respect to the structural properties by all of the panelists on the 1st, 7th and the 15th days of storage. Sample B was generally unacceptable. Sample C was acceptable on the 1st and the 7th days of storage but unacceptable on the last day of storage. Sample D was the most liked sample during the storage. In general, samples' sensory quality increased until the 7th day of the storage, then decreased.

In conclusion, this study demonstrated that blackberry yoghurt enriched with odourless fish oil could be a good source of essential Omega-3 fatty acids consumption. Odourless fish oil addition did not significantly effect pH, titratable acidity, lactic acid, viscosity and acid degree value of yoghurt samples. However, its effect on peroxide value of samples was evident since unsaturated fatty acid amount was increased with addition of odourless fish oil. According to the sensory assesment, sample C and D were acceptable and the structural properties of none the samples were effected by the addition of odourless fish oil. The essential amount of the EPA+DHA is 0.3-0.5 g/day for healthy people and since the 250 g of sample D provides 0.25 g EPA+DHA and 250 g of sample C provides 0.4 g EPA+DHA it is easily possible that the requirement of EPA+DHA can be supplied by consuming approximately 250 g of the sample D and approximately 150 g of the sample C.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Simopoulos AP., 2016. An increase in the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 8, 1-17.
2. Laye S., Nadjar A., Joffre C., Bazinet RP., 2018. Anti-Inflammatory effects of Omega-3 fatty acids in the brain: Physiological mechanisms and relevance to pharmacology. *Pharmacol Rev*, 70, 12-38.
3. Hooper C., De Souto Barreto P., Pahor M., Weiner M., Vellas B., 2018. The relationship of Omega 3 polyunsaturated fatty acids in red blood cell membranes with cognitive function and brain structure: A review focussed on Alzheimer's disease. *J Prev Alz Dis*, 5, 78-84.
4. Eltweri AM., Thomas AL., Metcalfe M., Calder PC., Dennison AR., Bowrey DJ., 2017. Potential applications of fish oils rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in the management of gastrointestinal cancer. *Clin Nutr*, 36, 65-78.
5. Rhee JJ., Kim E., Buring JE., Kurth T., 2017. Fish consumption, Omega-3 fatty acids, and risk of cardiovascular disease. *Am J Prev Med*, 52, 10-19.
6. Abdelhamid AS., Brown TJ., Brainard JS., Biswas P., Thorpe GC., Moore HJ., Deane KHO., AlAbdulghafoor FK., Summerbell CD., Worthington HV., Song F., Hooper L., 2018. Omega-3 fatty acids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 11, CD003177.
7. Kris-Etherton PM., Harris WS., Appel LJ., 2002. Fish consumption, fish oil, Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease. *Circulation*, 106, 2747-2757.
8. Simopoulos AP., 2000. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poult Sci*, 79, 961-970.
9. Altun T., Usta F., Çelik F., Danabaş D., 2004. Su

- ürünlerinin insan sağlığına yararları. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3, 11-18.
10. Kuda O., Rossmeisl M., Kopecky J., 2018. Omega-3 fatty acids and adipose tissue biology. *Mol Aspects Med*, 64, 147-160.
 11. Şahingöz SA., 2007. Omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığına etkileri. *Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21, 1-13.
 12. Conquer JA., Tierney MC., Zecevic J., Bettger WJ., Fisher RH., 2000. Fatty acid analysis of blood plasma of patients with alzheimer's disease, other types of dementia, and cognitive impairment. *Lipids*, 35, 1305-1312.
 13. Greenberg JA., Bell SJ., Ausdal WV., 2008. Omega-3 fatty acid supplementantation during pregnancy. *Rev Obstet Gynecol*, 1, 162-169.
 14. Damsgaard CT., Lauritzen L., Hauger H., Vuholm S., Teisen MN., Ritz C., Hansen M., Niclasen J., Molgaard C., 2016. Effects of oily fish intake on cardiovascular risk markers, cognitive function, and behavior in school-aged children: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 17, 510.
 15. Denomme J., Stark KD., Holub BJ., 2005. Directly quantitated dietary (n-3) fatty acid intakes of pregnant Canadian women are lower than current dietary recommendations. *J Nutr*, 135, 206-211.
 16. Barragan E., Breuer D., Döpfner M., 2017. Efficacy and safety of Omega-3/6 fatty acids, methylphenidate, and a combined treatment in children with ADHD. *J Atten Disord*, 21, 433-441.
 17. Tamime AY., Robinson RK., 2007. *Tamime and Robinson's Yoghurt Science and Technology*. 3rd ed., 250-290, Woodhead Publishing Limited, USA.
 18. Özer B., 2006. *Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi*, 1. basım., 320-370, Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir.
 19. Yücecan S., 2008. *Optimal Beslenme*. 1. basım, Sağlık Bakanlığı, No: 726, Ankara.
 20. Yang W., Ma Y., Smith-Warner S., Song M., Wu K., Wang M., Chan AT., Ogino S., Fuchs CS., Poylin V., Ng K., Meyerhardt JA., Giovannucci EL., Zhang X., 2019. Calcium intake and survival after colorectal cancer diagnosis. *Clin Cancer Res*, 25, 1980-1988.
 21. Hossain MN., Fakruddin M., Islam MN., 2012. Quality comparison and acceptability of yoghurt with different fruit juices. *Int J Food Processing Techno*, 3, 1-5.
 22. Robinson RK., 1995. The potential of inulin as a functional ingredient. *Br Food J*, 97, 30-32.
 23. Yong-Kang L., Quan-Yu W., Tong-Xin L., Shuan-Hong Z., 2005. Effects of whey protein concentrate (wpc-80 and wpc-34) on yoghurt functional properties. *Food Sci*, 26, 122-124.
 24. Singh G., Muthukumarappan K., 2008. Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt. *LWT-Food Sci Technol*, 41, 1145-1152.
 25. Sabeena Farvin KH., Baron CP., Skall Nielsen N., Jacobsen C., 2010. Antioxidant activity of yoghurt peptides: Part 1-in vitro assays and evaluation in ω -3 enriched milk. *Food Chem*, 123, 1081-1089.
 26. Estrada JD., Boeneke C., Bechtel P., Sathivel S., 2011. Developing a strawberry yogurt fortified with marine fish oil. *J Dairy Sci*, 94, 5760-5769.
 27. Rognlien M., Duncan SE., O'Keefe SF., Eigel WN., 2012. Consumer perception and sensory effect of oxidation in savory-flavored yogurt enriched with n-3 lipids. *J Dairy Sci*, 95, 1690-1698.
 28. Tamjidi F., Nasirpour A., Shahedi M., 2012. Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. *Food Sci Technol Int*, 18, 381-390.
 29. Dal Bello B., Torri L., Piochi M., Zeppa G., 2015. Healthy yogurt fortified with n-3 fatty acids from vegetable sources. *J Dairy Sci*, 98, 8375-8385.
 30. Ghorbanzade T., Jafari SM., Akhavan S., Hadavi R., 2017. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chem*, 216, 146-152.

31. Hooi R., Barbano DM., Bradley RL., Budde D., Bulthaus M., Chettiar M., Lynch J., Reddy R., Arnold EA., 2004. Chemical and physical methods. In "Standard Methods for the Examination of Dairy Products", Ed., HM. Wehr, JF. Frank, 363-532, American Public Health Association, Washington.
32. James SC., 1999. Analytical Chemistry of Foods. 2nd ed., 13-35, Chapman & Hall, London.
33. Steinsholt K., Calbert HE., 1960. A rapid colorimetric method for the determination of lactic acid in milk and milk products. *Milchwissenschaft*, 15, 7-11.
34. AOAC, 2000. Official methods of analysis of AOAC international. 17th ed., 30-70, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
35. Downey WK., 1975. Butter Quality. Published by An Foras Taluntais 19 Sadyamount Avenue Dublin 4, Dairy Research and Review Series No.7.
36. Meilgaard M., Civille GV., Carr BT., 1999. Sensory Evaluation Techniques. 3rd ed., 95-120, CRC Press LLC, Boca Raton.
37. Ünlütürk A., Turantaş F., 2003. Gıda Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, 250-285, Ege Üniversitesi Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir.
38. Küçüköner E., Tarakçı Z., 2003. Influence of different fruit additives on some properties of stirred yoghurt during storage. *YYU J Agr Sci*, 13, 97-101.
39. Tarakçı Z., 2010. Influence of kiwi marmalade on the rheology characteristics, color values and sensorial acceptability of fruit yoghurt. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 173-178.
40. El-Tanboly EE., 2007. Effect of plant proteinase from jack fruit (*Artocarpus integrifolis*) on rheological and sensory characteristics of low fat yoghurt as a functional food. *The Saudi Society for Food and Nutrition* 2, 70-80.
41. Küçükakgöl Ö., 2006. Karbonhidrat esaslı yağ ikame maddesi kullanılarak yağsız yoğurt üretiminde kurumadde artırımının yoğurdun kalitesi üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
42. Dias ACB., Silva RAO., Arruda MAZ., 2010. A sequential injection system for indirect spectrophotometric determination of lactic acid in yogurt and fermented mash samples. *Microchem J*, 96, 151-156.



A Serosurvey on Some Canine Vector-borne Zoonoses (*Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* and *Leishmania* spp.) in Osmaniye

Tülin GÜVEN GÖKMEN^{1a}, Elçin GÜNAYDIN^{2b}, Nevin TURUT^{3c}, Bünyamin AKIN^{4d}, Özgür KOÇ^{5e}, Armağan Erdem ÜTÜK^{6f}

1. University of Cukurova, Ceyhan Veterinary Faculty, Department of Microbiology, Adana, TURKEY.
 2. University of Hitit, Alaca Avni Celik Vocational School, Corum, TURKEY.
 3. Adana Veterinary Control Institute, Laboratory of Bacteriology, Adana, TURKEY.
 4. Nature and Wildlife Conservation and Research Association, Osmaniye, TURKEY.
 5. Municipality of Osmaniye, Directorate of Veterinary Affairs, Osmaniye, TURKEY.
 6. University of Cukurova, Ceyhan Veterinary Faculty, Department of Parasitology, Adana, TURKEY.
- ORCID: 0000-0001-9673-097X^a, 0000-0002-5247-7578^b, 0000-0003-2950-001X^c, 0000-0003-1074-652X^d, 0000-0002-6050-2286^e, 0000-0002-7986-3583^f

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
24.06.2019	29.08.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Güven Gökmen T, Günaydin E, Turut N, Akin B, Koç O, Ütük AE: A Serosurvey on Some Canine Vector-borne Zoonoses (*Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* and *Leishmania* spp.) in Osmaniye. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 151-158, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.580250

Abstract: Vector-borne diseases in dogs are of major global significance for their impact on animal and human health. Especially, it is necessary to determine the prevalence of agents found in reservoir animals by conventional, molecular and serological methods for the application of control programs for these diseases. Serosurvey studies are one of the reliable methods to know the presence and prevalence of these diseases in our country and region. In this study, it was aimed to detect the prevalence of *Ehrlichia canis*/*E.ewingii*, *Anaplasma platys*/*A.phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* and *Leishmania infantum* in dogs in Osmaniye. Five canine vector-borne diseases were investigated with a rapid in-clinic enzyme-linked immunosorbent assay in 100 clinically healthy dog serum samples in Osmaniye city center, Düziçi, Sumbas, Kadirli, Hasanbeyli, Bahçe and Toprakkale districts. Seroprevalence rate was detected as 3% for *E.canis*/*E.ewingii* and 1% for *D.immitis* by SNAP 4Dx PLUS. The prevalence of *A.platys*/*A.phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* and *L.infantum* were determined as 0%. In conclusion, our study in which we determined the seroprevalence of dog vector-borne diseases in Osmaniye is the first study in which five agents are determined in one step and will contribute to the effective control programs prepared for animal and public health in our region.

Keywords: *Dirofilaria*, ELISA, *Ehrlichia*, PCR.

Osmaniye'de Bazı Köpek Vektör Kaynaklı Zoonozlar (*Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp. *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* ve *Leishmania* spp.) Üzerine Serolojik Bir Araştırma

Öz: Köpeklerde bulunan vektör kaynaklı hastalıklar, hayvan ve insan sağlığı üzerindeki etkileri açısından büyük önem taşımaktadır. Özellikle belirli bölgelerde bu hastalıklara yönelik kontrol programlarının uygulanması için, öncelikle rezervuar hayvanlarda bulunan etkenlerin konvansiyonel, moleküler ve serolojik yöntemlerle prevalansının belirlenmesi gereklidir. Serolojik araştırma çalışmaları ülkemizde ve bölgemizde bu hastalıkların varlığını ve yaygınlığını bilmek için güvenilir yöntemlerden biridir. Bu çalışmada, Osmaniye ilinde köpeklerde *Ehrlichia canis* / *E.ewingii*, *Anaplasma platys* / *A.phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* ve *Leishmania infantum* prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. Osmaniye merkez, Düziçi, Sumbas, Kadirli, Hasanbeyli, Bahçe ve Toprakkale ilçelerinde klinik olarak sağlıklı yüz köpekten alınan serum örneklerinde hızlı bir immüno sorbent testi ile beş köpek vektör kaynaklı hastalık araştırılmıştır. SNAP 4Dx PLUS testi ile seroprevalans oranı *E.canis* / *E.ewingii* için %3, *D.immitis* için %1 olarak tespit edilmiştir. *A.platys* / *A.phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* ve *L.infantum* prevalansı ise % 0 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, Osmaniye'de köpek vektör kaynaklı hastalıkların seroprevalanslarını tespit ettiğimiz çalışmamız, bölgede beş etkenin tek aşamada belirlendiği ilk çalışmadır ve bölgemizde hayvan ve halk sağlığı için hazırlanan efektif kontrol programlarına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Dirofilaria*, ELISA, *Ehrlichia*, PZR.

✉Tulin Gokmen Guven

University of Cukurova, Ceyhan Veterinary Faculty, Department of Microbiology, Adana, TURKEY.
e-mail: tulinguven01@hotmail.com

INTRODUCTION

Canine vector-borne diseases (CVBDs) are transmitted by arthropods, including phlebotomus, ticks, fleas and mosquitoes and have a worldwide distribution (1). The most well known CVBD agents are *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Borrelia burgdorferi* (*B.burgdorferi*), *Dirofilaria immitis* (*D.immitis*) and *Leishmania* spp. These agents are essential for public health due to their zoonotic potential and dogs, which in close contact with people in rural and urban areas serve as important reservoirs (2).

Anaplasma spp. are intracellular gram-negative bacteria. *Anaplasma phagocytophilum* (*A.phagocytophilum*) can infect many hosts such as ruminants, cats, horses, dogs and humans. While it causes symptoms such as thrombocytopenia, fever, anorexia, hypoalbuminemia, and anemia in animals, it also causes "Human Granulocytic Anaplasmosis" in humans. It infects granulocytes and is transmitted by *Dermacentor*, *Ixodes*, *Hyalomma* and *Rhipicephalus* tick species (3,4). *Anaplasma platys* (*A. platys*) cause "Canine cyclic thrombocytopenia" and infects canine platelets which often causes co-infections with other tick-borne agents, especially *Ehrlichia canis* (*E.canis*) transmitted by *Rhipicephalus sanguineus* (*R.sanguineus*) tick (5). *A. platys* is not confirmed as a disease agent in humans, but it was detected molecularly in some cases and this may indicate that it may have a zoonotic potential in the future (6).

E.canis is a gram-negative, intracellular bacterium that is transmitted by *R.sanguineus*. It causes to "Canine Monocytic Ehrlichiosis" characterized by hematological abnormalities and fever. In recent years, *E.canis* has been shown to cause "Human Monocytic Ehrlichiosis" in humans (7,8). *Ehrlichia ewingii* (*E. ewingii*) is transmitted by *Amblyomma* and *Dermacentor* tick species in the dogs, infects neutrophils and causes neutrophilic polyarthritis. It is also a human pathogen transmitted by *Amblyomma americanum*

(*A.americanum*) at the same time. The bacteria cause "Human Monocytic Ehrlichiosis" which is an acute febrile disease with fever, headache, muscle pain and fatigue symptoms (9).

B.burgdorferi is transmitted by *Ixodes* species and is the causative agent of Lyme disease or borreliosis, characterized by anorexia, lethargy, lymphadenopathy, fever, arthritis, cardiac or neurological dysfunctions and glomerulonephritis in dogs, horses, cats and humans (10).

D.immitis is the causative agent of cardiopulmonary dirofilariosis or heartworm disease in dogs and transmitted by mosquitoes in the genus of *Culex*, *Aedes* and *Anopheles*. Pulmonary and ocular dirofilariosis are seen in humans (11).

Leishmaniosis is a zoonotic disease which is seen in vertebrate hosts and transmitted by sandflies. In Turkey, especially *Leishmania infantum* (*L.infantum*) and *Leishmania tropica* (*L.tropica*) agents are found. The disease is most common in humans and dogs among mammals. Dogs have critical importance in the spread of the disease because they both show the symptoms of the disease and act as reservoirs (12).

For the effective control of CVBDs, it is necessary to know the serological status of reservoir animals in a particular area. Therefore, in our study, we aimed to determine the seroprevalence of *E.canis*/*E.ewingii*, *A.platys*/*A.phagocytophilum*, *B.burgdorferi*, *D.immitis* and *L.infantum* in dogs in Osmaniye.

MATERIALS and METHODS

Sample Collection

This study was approved by the Unit Ethics Committee of the Ceyhan Veterinary Faculty of Çukurova University on 12.09.2017 with the 9-decision number. Blood samples of 100 farm dogs (30 female and 70 male) were collected from the countryside of seven districts, Osmaniye city center,

Düziçi, Sumbas, Kadirli, Hasanbeyli, Bahçe and Toprakkale at Osmaniye over 3 months from June to August 2017 (Figure 1). All dogs were clinically healthy. Dog owners filled out an information form, which includes information on the age, breed, sex, tick and flea infestation of each dog. The age of the dogs ranged from 2 months to 10 years. Three dogs had only tick infestation, 49 dogs had only flea infestation and 37 dogs had both tick and flea infestation. No infestation was observed in 11 dogs. The collected blood samples were centrifuged at 1200g for 10 minutes. The sera were separated and stored at -20°C until use.

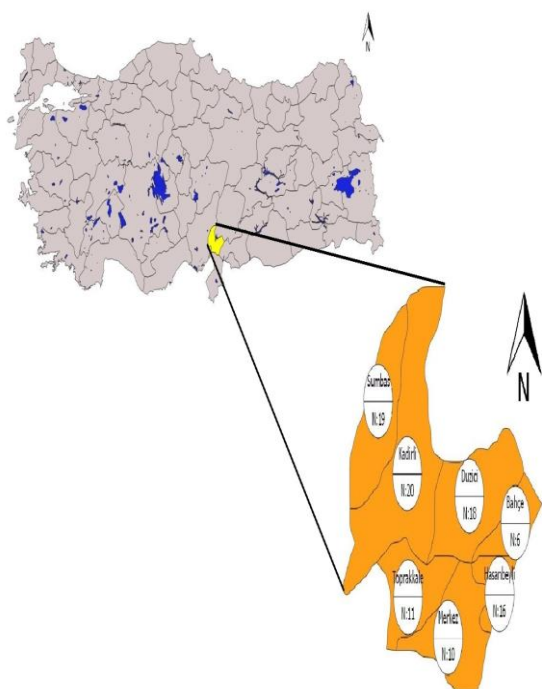


Figure 1. The distribution of samples taken in districts of Osmaniye (QGIS 3.6).

Şekil 1. Osmaniye ilçelerinden alınan örneklerin dağılımı (QGIS 3.6).

Sample Analysis

Serum samples from dogs were screened by a rapid in-clinic enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (SNAP® 4Dx® Plus Test from IDEXX® Laboratories, Westbrook, Maine, USA) according to

the instructions of the manufacturer. This test identifies the circulating carbohydrate of *D.immitis* and detects the antibodies against the immunodominant proteins of *A. phagocytophilum* (p44 and MSP2), *B. burgdorferi* (sensu lato) (C6) and *E. canis* (p30 and p30-1). Results were interpreted colorimetrically.

Furthermore, an ELISA kit (Leishmania 96, Biopronix, Agrolabo) was used for the detection of anti-*L.infantum* antibodies in dog sera. The test was done according to the instructions of the manufacturer. The mean optical density (OD) at 450 nm was determined with a microplate reader (EZ Read 400, Microplate Reader, Biochrom). Cut-off values were calculated (OD 450 nm positive control X 0.30 for negative cut-off and OD 450 nm positive control X 0.35 for positive cut-off) and samples with an OD lower than the negative cut-off value accepted as negative while samples with an OD higher than the positive cut-off value accepted as positive. Samples with an OD between both cut-off values were accepted as doubtful.

RESULTS

At the end of the study, the seroprevalence rate was detected as 3% for *E.canis/E.ewingii* and 1% for *D.immitis* by SNAP 4Dx PLUS. However, no antibodies were detected for *A.platys* / *A.phagocytophilum*, *B.burgdorferi* and *L.infantum*. *D.immitis* seropositive male dog in Düziçi was 2-year-old and Kangal breed. *Ehrlichia spp.* seropositivity was determined in Sumbas, Düziçi and Kadirli regions. In Sumbas and Kadirli, the Kangal breed female dogs were 18 months and 3 months old, respectively. Male Golden Retriever is 5-year-old in Düziçi (Table 1 and 2).

Table 1. Distribution of vector-borne agents according to Osmaniye districts.**Tablo 1.** Vektör kaynaklı etkenlerin Osmaniye ilçelerine göre dağılımı.

	<i>E.canis/ E.ewingii</i>	<i>A.phagocytophilum/ A.platyis</i>	<i>D.immitis</i>	<i>B.burgdorferi</i>	<i>Leishmania spp.</i>
Sumbas	1/19	0/19	0/19	0/19	0/19
Düziçi	1/18	0/18	1/18	0/18	0/18
Osmaniye city center	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Toprakkale	0/11	0/11	0/11	0/11	0/11
Hasanbeyli	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
Kadirli	1/20	0/20	0/20	0/20	0/20
Bahçe	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Total	3/100 (3%)	0/100 (0%)	1/100 (1%)	0/100 (0%)	0/100 (0%)

Table 2. Demographic information of dogs infected *Ehrlichia* spp. and *D.immitis*.**Tablo 2.** *Ehrlichia* spp. ve *D. immitis* ile infekte köpeklerin demografik bilgileri.

<i>E.canis/ E.ewingii</i> positive dogs	Age	Breed	Sex	Region
Dog 1	18 month	Kangal	Female	Sumbas
Dog 2	5 age	Golden Retriever	Male	Düziçi
Dog 3	3 month	Kangal	Female	Kadirli
<i>D.immitis</i> positive dog	Age	Breed	Sex	Region
Dog 1	2 age	Kangal	Male	Düziçi

DISCUSSION and CONCLUSION

Different serological tests, ELISA, Dot-ELISA, indirect fluorescent antibody test (IFA), and micro-immunofluorescent assay, have been used for the detection of anti-*E.canis* antibodies. In Turkey, seroprevalences of *E.canis* were determined as 1-74 % (13-16). When we examine the neighboring countries, *E.canis* prevalences were determined as 37.5% (45/120) in Bulgaria (17) 16.6% (40/240) in Iran (18) and 10.3% (138/1335) in Southern Italy (19).

In this study, we detected anti-*E.canis/E.ewingii* antibodies in 3 out of 100 healthy dogs (3%) with ELISA (SNAP 4Dx Plus) test. Our result was similar to İğdır 1% (1/100) and Diyarbakır 4.87% (4/82) (13,14). The common points of these three studies, including our work, sera samples were obtained from randomly selected dogs, same ELISA kits (SNAP 4DX plus, SNAP 3DX) and similar sample sizes were used and also climatic factors were similar. Although the same kit was used in the study in Italy, seroprevalence (10.3%) was higher than our study (3%). This higher seroprevalence may be associated with sampling. Hunting dogs were sampled in this study and these animals are more likely to come into contact with vectors, because they are constantly in the field.

In other studies, with high prevalences; there are marked differences from our study about the working parameters. For example, sample sizes are small in Balıkesir (n: 38), İzmir (n: 32), Sanliurfa (n: 27), Adana (n: 26), Antalya (n: 18) and Ankara (n: 31) (15,16). Different serologic tests (IFA) and cut-off values were used (1/20, 1/40 and 1/100) in these studies (15,16,17). It is known that low cut-off values are associated with high prevalences. As a result, in these regions diseases may be endemic but at the same time, the high prevalence may be the result of the differences in the serological test, cut-off values, the number of samples, and the climatic factors.

We determined the prevalence of *D.immitis* as 1% (1/100) with an antigen-ELISA test. Prevalence values are quite different in different provinces of Turkey and determined as 0-30% (20-28). In studies conducted in neighboring countries, prevalences were determined as 4.1% (19/750) in Greece (29), 40.12% (69/172) in Iraq (30) and 5.4% (8/149) in Southern Iran (31) with the serologic examination and 33.3% in Bulgaria (32) with necropsy.

For the serologic examination antigen, ELISA tests were used in all examined studies. Except for İstanbul and İzmir province (PetCHEK HTWM PF, IDEXX) the same commercially ELISA kit was

(DiroCHEK, Synbiotics Corp. 96-0230 USA) preferred in Turkey (20). We choose SNAP 4DX plus ELISA kit for this study as in Greece (29), Iraq (30) and Southern Iran (31).

We think that differences in the seroprevalence rates of Dirofilariosis are a multifactorial concept. In most of the studies, the same serological method and also the same commercial kit were used in Turkey. It is said to be that, Dirofilariosis, in different parts of Turkey, is presented as in hypo and mesoendemic levels according to geographic, climatic factors and vector activity. In different times, researchers get different results from the same province with same ELISA test. For example, seroprevalences were 0% (0/19)-14.8% (4/27) in Ankara (23,26), 0% (0/29)-9.1% (11/120) in Elazığ (23,33), 3%(1/37)-10.5% (2/19) in Mersin (23,26), and 4.58% (11/240)- 10%(4/42) in Kars (25,26). So, sample size and sampling techniques also have an impact on the prevalence of the disease and may affect the results.

In our study, seroprevalences of *B.burgdorferi*, *Anaplasma* spp., and *Leishmania* spp. were 0%. In previous researches, the prevalence of *B.burgdorferi* in dogs were determined between 0-28.6% in Turkey (13,14,34-37). The prevalences in neighboring countries were as follows: 0% (0/200) in Greece (29), 2.4% (4/167) in Bulgaria (38) and 9.52% (16/168) in Iran (39).

In our country, some *Anaplasma* seroprevalence studies were found to be higher than ours. Seroprevalence of *A.phagocytophilum* was detected between 2.75-30% in Sinop and Thrace region (36, 40). Besides, seroprevalence of *A. platys* was determined as 4.75% in the Thrace region (40).

Although our region was an endemic region for *L.infantum*, it was interesting that the dogs were seronegative. According to the Ministry of Health in Turkey, according to the records years 1990-2010, 46 003 new human cases have been reported. 96% of these patients were reported from Sanliurfa, Adana, Osmaniye, Hatay, Diyarbakir, Icel and

Kahramanmaras (41). Seroprevalence in dogs was determined as 7.2% in a study conducted in our country. However, similar to our results in the same study, the dogs were seronegative in Elazığ. There were also seronegative dogs in different studies in other provinces such as Ordu, Şanlıurfa, Diyarbakır, Erzurum, Edirne, Çanakkale, Burdur, Sinop, Amasya and Tokat (12). In a study conducted in Samsun, seroprevalence was 0.41%, close to our conclusion (42).

We thought that seronegativity might be due to various reasons for *B.burgdorferi*, *Anaplasma* spp., and *Leishmania* spp. Firstly, low and higher seropositivities may be associated with the presence or absence of vectors and different endemic levels of the diseases in different provinces of Turkey and neighboring countries. According to Aydın and Bakirci (43), *Ixodes ricinus* (*I.ricinus*), the primary vector of *B.burgdorferi*, is seen in coastal areas and wetlands such as Marmara, Aegean, Mediterranean, Black Sea and East Anatolia regions of Turkey. In our region, the vector population may be small or, if present, may not carry *B.burgdorferi*. Another reason for seronegativity could be the decrease of specific antibody levels in the blood during sampling. When *Anaplasma* seronegativity was evaluated, it was known that antibody titers for *Anaplasma* reverted to undetectable levels by 7 to 8 months (44). Finally, another cause of seronegativity is attributed to the fact that serological tests in newly infected animals are not suitable for infection detection. In addition, immune sensitivity to a self-healing cellular immune reaction may be improved. Therefore, serological tests may lead to false-negative results (45). This is common in the serological detection of *Leishmania* species.

In conclusion, our study provided information about the serological status of Canine vector-borne diseases in Southern Turkey. In Osmaniye, there is not a study that examined together of five vector-borne disease agents and detected in a single step. Our results will contribute to the effective control program in our region. However, when we consider

the missing points of the study, some suggestions should be taken into consideration. Firstly, studies should be conducted in the region to examine the types, propagation of vectors and distributions according to environmental conditions. Furthermore, vector screening should be done according to the geographical location and climate of the regions. Vectors that select specific climatic and geographic regions should be examined. Finally, a standard procedure should be applied, especially by using tests with high sensitivity and specificity, and with a sufficient number of sampling.

Acknowledgments

In this study, we would like to thank Osmaniye Municipality for their contributions.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Angelou A., Gelasakis AI., Verde N., Pantchev N., Schaper R., Chandrashekar R., Papadopoulos E., 2019. Prevalence and risk factors for selected canine vector-borne diseases in Greece. *Parasit Vectors*, 12, 283.
2. Movilla R., Garcia C., Siebert S., Roura X., 2016. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. *Parasit Vectors*, 9, 421.
3. Carrade DD., Foley JE., Borjesson DL., Sykes JE., 2009. Canine Granulocytic Anaplasmosis: A review. *J Vet Intern Med*, 23,1129-1141.
4. Huber D., Reil I., Duvnjak S., Jurkovic D., Lukacevic D., Pilat M., Beck A., Mihaljevic Z., Vojta L., Polkinghorne L., Beck R., 2017. Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Wolbachia* sp. but not *Ehrlichia canis* in Croatian dogs. *Parasitol Res*, 116, 3019-3026.
5. Low VL., Prakash BK., Lim YA., Tan TK., Vinnie Siow WY., Sofan Azirun M., AbuBakar S., 2018. Detection of Anaplasmataceae agents and co infection with other tick borne protozoa in dogs and *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* ticks. *Exp Appl Acarol*, 75, 429-435.
6. Arraga-Alvarado CM., Qurollo BA., Parra OC., Berrueta MA., Hegarty BC., Breitschwerdt EB., 2014. Molecular evidence of *Anaplasma platys* infection in two women from Venezuela. *Am J Trop Med Hyg*, 91, 1161-1165.
7. Harrus S., Waner T., 2011. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. *Vet J*, 187, 292-296.
8. Perez M., Bodor M., Zhang C., Xiong Q., Rikihisa Y., 2006. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. *Ann NY Acad Sci*, 1078, 110-117.
9. Harris RM., Couturier BA., Sample SC., Coulter KS., Casey KK., Schlaberg R., 2016. Expanded geographic distribution and clinical characteristics of *Ehrlichia ewingii* Infections, United States. *Emerg Infect Dis*, 22, 862-865.
10. Littman MP., Gerber B., Goldstein RE., Labato MA., Lappin MR., Moore GE., 2018. ACVIM consensus update on Lyme borreliosis in dogs and cats. *J Vet Intern Med*, 32, 887-903.
11. Simon F., Siles-Lucas M., Morchon R., Gonzalez-Miguel J., Mellado I., Carreton E., Montoya-Alonso JA., 2012. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev*, 25, 507-544.
12. Utuk AE., Guven Gokmen T., Bolacali M., Balkaya I., Simsek A., 2018. Serologic survey on Canine Leishmaniasis in Kocaeli, Sakarya, Mersin and Elazığ Provinces of Turkey. *Isr J Vet Med*, 73, 3-7.
13. Sarı B., Taşçı G., Taşkın G., Kılıç Y., 2013. Seroprevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* in dogs in Iğdır province, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, 735-739.

14. Icen H., Sekin S., Simsek A., Kochan A., Celik OY., Altas MG., 2011. Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* infection in dogs from Diyarbakir in Turkey. *Asian J Anim Vet Adv*, 6,371-378.
15. Batmaz H., Nevo E., Waner T., Sentürk S., Yilmaz Z., Harrus S., 2001. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Turkey. *Vet Rec*, 148, 665-666.
16. Erdeğer J., Sancak A., Ataseven L., 2003. Köpeklerde *Ehrlichia canis*'in indirekt fluoressan antikor (IFA) testi ve Dot-ELISA ile saptanması. *Turk J Vet Anim Sci*, 27, 767-773.
17. Tsachev I., Kontos V., Zarkov I., Krastev., 2006. Survey of antibodies reactive with *Ehrlichia canis* among dogs in South Bulgaria. *Rev Med Vet*, 157, 481-485.
18. Maazi N., Malmasi A., Shayan P., Nassiri SM., Salehi TZ., Fard MS., 2014. Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* in naturally exposed dogs in Iran: an analysis on associated risk factors. *Rev Bras Parasitol*, 23, 16-22.
19. Piantedosi D., Neola B., D'Alessio N., Di Prisco F., Santoro M., Pacifico L., Sgroi G., Auletta L., Buch J., Chandrashekar R., Breitschwerdt EB., Veneziano V., 2017. Seroprevalence and risk factors associated with *Ehrlichia canis*, *Anaplasma spp.*, *Borelia burgdorferi sensu lato*, and *D. immitis* in hunting dogs from southern Italy. *Parasitol Res*, 116, 2651-2660.
20. Öncel T., Vural G., 2005. Seroprevalence of *Dirofilaria immitis* in stray dogs in İstanbul and İzmir. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 785-789.
21. Civelek T., Yıldırım A., Iça A., 2006. Bursa İli Gemlik yöresi köpeklerde kalp kurdu hastalığının prevalansı. *Van Vet Bil Derg*, 22, 65-68.
22. Yıldırım A., Ica A., Atalay O., Duzlu O., Inci A. 2007. Prevalence and epidemiological aspects of *Dirofilaria immitis* in dogs from Kayseri province, Turkey. *Res Vet Sci*, 82, 358-363.
23. Simsek S., Utuk AE., Koroglu E., Rishniw M., 2008. Serological and molecular studies on *Dirofilaria immitis* in dogs from Turkey. *J Helminthol*, 82, 181-186.
24. Yaman M., Guzel M., Koltas IS., Demirkazik M., Aktas H., 2009. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs from Hatay province, Turkey. *J Helminthol*, 83, 255-260.
25. Taşçı TG., Kılıç Y., 2012. Kars ve Iğdır civarındaki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı ve potansiyel vektör sivrisinek türleri üzerine araştırmalar. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 18, 29-34.
26. Köse M., Erdoğan M., 2012. Serological screening of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) infections in Turkey. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 125, 503-508.
27. Adanır R., Sezer K., Köse O., 2013. The prevalence of *Dirofilaria immitis* dogs with different breed, ages and sex. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 60, 241-244.
28. Ataş AD., Altay K., Alim A., Özkan E., 2018. Survey of *Dirofilaria immitis* in dogs from Sivas province in the Central Anatolia Region of Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 42, 130-134.
29. Diakou A., Kapantaidakis E., Tamvakis A., Giannakis V., Strus N., 2016. *Dirofilaria immitis* infections in dogs in different areas of Greece. *Parasit Vectors*, 20, 508.
30. Al-Shabbani A., Al-Shabbani AHA., 2016. In Iraq, the first application of serological SNAP ELISA technique in detection of Canine Heartworms (*Dirofilaria immitis*) In Herder Dogs of Al-Qadisiyah and Dhi-Qar Provinces. *Kufa J Vet Sci*, 7,192-198.
31. Bamorovat M., Sharifi I., Harandi MF., Nasibi S., Sadeghi B., Khedri J., Mohammadi MA., 2017. Parasitological, serological and molecular study of *Dirofilaria immitis* in domestic dogs, Southeastern Iran. *Iran J Parasitol*, 12, 260-266.
32. Panayotova-Pencheva MS., Mirchev RL., Trifinova AP., 2016. *Dirofilaria immitis* infection in carnivores from Bulgaria: 2012-2013 update. *Bulg J Vet Med*, 19, 153-162.

33. Balıkçı E., Sevgili M., 2005. Elazığ ve çevresindeki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in seroprevalansı. *FÜ Sağlık Bil Dergisi*, 19, 103-106.
34. Küçüker S., Şahinduran Ş., 2018. Antalya İlinde bulunan köpeklerde *Dirofilariasis*, *Borreliozis*, *Ehrlichiosis* ve *Anaplazmozis*'in hızlı test kitleri ile teşhisi ve insidansı üzerine araştırmalar. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 13, 191-200.
35. Bhide M., Yılmaz Z., Golcu E., Torun S., Mikula I., 2008. Seroprevalence of anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs and horses in Turkey. *Ann Agric Environ Med*, 15, 85-90.
36. Güneş T., Poyraz Ö., Babacan A., 2011. The seroprevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* in clinically healthy dogs from Sinop region of Turkey. *Cumhuriyet Tıp Derg*, 33, 396-401.
37. Ural K., Gultekin M., Atasoy A., Ulutas B., 2014. Spatial distribution of vector borne disease agents in dogs in Aegean region, Turkey. *Rev MVZ Cordoba*, 19, 4086-4098.
38. Pantchev N., Schnyder M., Vrhovec MG., Schaper R., Tsachev I., 2015. Current surveys of the seroprevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Leishmania infantum*, *Babesia canis*, *Angiostrongylus vasorum* and *Dirofilaria immitis* in dogs in Bulgaria. *Parasitol Res*, 114, 117-130.
39. Mosallanejad B., Avizeh R., Jalali MHR., Pourmahdi M., 2015. A serological survey on *Borrelia burgdorferi* infection among companion dogs in Ahvaz district, southwestern Iran. *Comp Clin Pathol*, 24, 1559-1563.
40. Çetinkaya H., Matur E., Akyazi I., Ekiz EE., Aydın L., Toparlak M., 2016. Serological and molecular investigation of *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in ticks and blood of dogs, in the Thrace Region of Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, 7, 706-714.
41. Gürel MS., Yeşilova Y., Ölgen MK., Özbek Y., 2012. Cutaneous Leishmaniasis in Turkey. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 36, 121-129.
42. Bolukbas CS., Pekmezci GZ., Gurler AT., Pekmezci D., Guzel M., Hokele M., Acici M., Umur S., 2016. Evidence of *Leishmania* spp. antibodies and DNA in dogs in the Middle Black Sea Region of Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 63, 111-114.
43. Aydın L., Bakirci S., 2007. Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res*, 101, 163-166.
44. Egenvall AE., Hedhammar AA., Bjoersdorff AI., 1997. Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. *Vet Rec*, 140, 222-226.
45. Otranto D., Paradisi P., Caprariis D., Stanneck D., Testini G., Grimm F., Deplazes P., Capelli G., 2009. Toward diagnosing *leishmania infantum* infection in asymptomatic dogs in an area where Leishmaniasis is endemic. *Clin Vaccine Immunol*, 16, 337-343.



Erzurum Bölgesindeki İçme Sularının Kalitesinin Belirlenmesi*

Hüseyin GÖKÇEN^{1a}, Mustafa ATASEVER^{2b}✉

1. 7'inci Kolordu Gıda Kontrol Müfrez Komutanlığı, Diyarbakır, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0001-7665-8317^a, 0000-0002-1627-5565^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.11.2018	13.03.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Gökçen H, Atasever M: Erzurum Bölgesindeki İçme Sularının Kalitesinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 159-169, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.482765

Öz: Araştırmada, Erzurum çeşmeleri ve şebeke suları mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından incelenmiştir. Su numunelerinde pH değeri 6.65-8.33 (ortalama 7.31), bulanıklık ve renk ile koku ve tat değerlerinin, tüketicilerce kabul edilebilir sınırlarda olduğu belirlenmiştir. İletkenlik değerinin 113-830 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (ortalama 453.4 $\mu\text{S}/\text{cm}$) ve nitrit değerinin 0.02-0.25 mg/l (ortalama 0.083 mg/l) arasında değiştiği saptanmıştır. Erzurum il ve ilçe merkezlerindeki su numunelerinde nitrat değeri 9.60-26.85 mg/l (ortalama 17.44 mg/l) arasında saptanmıştır. Erzurum merkezde bulunan toplam 12 halk çeşmesinin 6'sında (%50) nitrat değerinin 50.17-145.84 mg/l (ortalama 95.88 mg/l) düzeyinde olduğu ve yönetmelikte bildirilen değerlere uygun olmadığı belirlenmiştir. Su numunelerinde amonyum, arsenik, alüminyum ve kurşun miktarları sırasıyla, 0.07-0.59 mg/l (ortalama 0.183 mg/l), 0-0.432 $\mu\text{g}/\text{l}$ (ortalama 0.036 $\mu\text{g}/\text{l}$), 0.04-0.25 $\mu\text{g}/\text{l}$ (ortalama 0.115 $\mu\text{g}/\text{l}$), 0-0.613 $\mu\text{g}/\text{l}$ (ortalama 0.049 $\mu\text{g}/\text{l}$) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Erzurum il ve ilçe merkezlerindeki su numunelerinde demir miktarı 0.04-0.18 $\mu\text{g}/\text{l}$ (ortalama 0.10 mg/l) arasında saptanmıştır. Toplam 1403 su numunesinin, 117 tanesinde (%8.33) *E. coli* ve koliform grubu bakteri üremesi saptanmıştır. Suların ortalama pH, iletkenlik, nitrit, nitrat, amonyum, demir, arsenik, alüminyum ve kurşun değerleri sırasıyla 7.31, 429.56 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 0.08 mg/l, 26.39 mg/l, 0.20 mg/l, 0.108 $\mu\text{g}/\text{l}$, 0.038 $\mu\text{g}/\text{l}$, 0.110 $\mu\text{g}/\text{l}$ ve 0.054 $\mu\text{g}/\text{l}$ olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Amonyak, Arsenik, İçme suyu, Koliform, Nitrat.

Determination of Drinking Water's Quality Around Erzurum Region

Abstract: In this research, Erzurum fountains and network waters were investigated in terms of microbiological, physical and chemical properties. The values of cloud, colour, smelt, taste of the water samples were thought that they were acceptable and there were no abnormal changes by consumers. pH rate of the water samples was assessed as 6.65-8.33 (average rate 7.31). The rate of conductivity and nitrite of the samples varied from, respectively 113-830 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (average rate 453.4 $\mu\text{S}/\text{cm}$) and 0.02-0.25 mg/l (average rate 0.083 mg/l). The rate of nitrate of the samples varied from 9.60-26.85 mg/l (average rate 17.44 mg/l) in the centre of Erzurum and Erzurum's counties. The rate of nitrate varied from 50.17-145.84 mg/l (average rate 95.88 mg/l) in half of all public drinking fountain (6 of 12) in the centre of Erzurum and the rate was defined that it was not proper to legal limits. The rate of nitrate varied from 14.03-47.73 mg/l (average rate 34.55 mg/l) in the other half of all public drinking fountain (6 of 12) in the centre of Erzurum and the rate was defined that it was proper to legal limits. The rate of ammonium, arsenic, aluminum and lead of the samples varied from, respectively 0.07-0.59 mg/l (average rate 0.183 mg/l), 0-0.432 $\mu\text{g}/\text{l}$ (average rate 0.036 $\mu\text{g}/\text{l}$), 0.04-0.25 $\mu\text{g}/\text{l}$ (average rate 0.115 $\mu\text{g}/\text{l}$), 0-0.613 $\mu\text{g}/\text{l}$ (average rate 0.049 $\mu\text{g}/\text{l}$). The rate of iron of the samples varied from 0.04-0.18 mg/l (average rate 0.10 mg/l) in the centre of Erzurum and Erzurum's counties. Presence of *E. coli* and coliform bacteria was observed in 117 of 1403 samples (%8.33). Average pH, conductivity, nitrite, nitrate, ammonium, iron, arsenic, aluminum and lead values of waters were determined as 7.31, 429.56 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 0.08 mg/l, 26.39 mg/l, 0.20 mg/l, 0.108 $\mu\text{g}/\text{l}$, 0.038 $\mu\text{g}/\text{l}$, 0.110 $\mu\text{g}/\text{l}$ and 0.054 $\mu\text{g}/\text{l}$ respectively.

Keywords: Ammonia, Arsenic, Drinking water, Coliform, Nitrate.

✉ Mustafa Atasever

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: atasever@atauni.edu.tr

* Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında yapılmış, yazarın aynı isimli yüksek lisans tezinden alınmıştır.

GİRİŞ

Su; canlıların en temel ihtiyaçlarından, hayatın varlığı ve devamlılığı için vazgeçilmez bir kaynaktır. Dünyanın su sıkıntısı her geçen gün artmaktadır. Yeryüzünde iki çeşit su bulunur:

1. Tatlı su, insanların içebileceği su, az tuz içerir.
2. Tuzlu su, okyanuslardaki su, daha yüksek konsantrasyonda çözünmüş tuz içerir.

İnsan kullanımlarının neredeyse tamamı tatlı su gerektirir. Yeryüzündeki suyun %97'si tuzlu sudur ve sadece %3'ü tatlı su olup, bunun da üçte ikisi buzullarda donmuş durumdadır. Geri kalan dondurulmamış tatlı su esas olarak yeraltı suyu olarak bulunur, zeminin üstünde veya havada bulunan küçük bir fraksiyon vardır. Gelişmekte olan ülkelerde su gereksiniminin karşılanmasında temiz su bulma önemli sorunlardandır. Yetersiz sağlık ve hijyen koşulları nedeniyle bu ülkelerde suyun mikroorganizmalarla kontamine olması sıkça rastlanan bir durumdur. Güvenli olmayan içme suyuyla ilişkili birçok bulaşıcı hastalık (örn., tifo, dizanteri, kolera) salgınları ve özellikle çocuklarda her gün binlerle ifade edilen ölümler görülebilmektedir. Dünya'da her sekiz kişiden biri temiz tatlı suya yeterince erişememektedir.

Su kirliliği; genel anlamda insan etkileri sonucunda kullanımı kısıtlayan ya da engelleyen ve ekolojik dengeleri bozan kalite değişimleri şeklinde tanımlanmaktadır (1).

UNESCO Dünya Su Gelişme Raporuna göre en kaliteli suyun Finlandiya'da olduğu bildirilmiştir. Tatlı su kaynakları ve özellikle yer altı sularının miktarı ve temizliği, atık suyun nasıl arıtıldığı kriterleri değerlendirilerek oluşturulan listede ikinci sırada Kanada, üçüncü sırada Yeni Zelanda yer alırken, Türkiye 45. sırada yer almıştır (2).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) (3,4), Çevre Koruma Ajansı (EPA) (5) ve Avrupa Birliği (AB) (6) gibi uluslararası kuruluşlarca içme ve kullanma suları ile ilgili belirlenen standartlar birçok ülke tarafından kabul edilmiştir. Türkiye'de de yapılan değişikliklerle içme suları ile ilgili standart ve yönetmelikler bu kuruluşlarla uyumlu hale getirilmiştir (7,8).

Bu çalışmada, Erzurum bölgesi şehir merkezi, halk çeşmeleri ve ilçelerin su dağıtım şebekeleinin suları bazı mikrobiyolojik ve fiziksel ve kimyasal parametreler yönünden incelenerek verilerin standartlara uygunluğu araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Erzurum şehir merkezi, halk çeşmeleri ve ilçelerin su dağıtım şebekesinin uç noktalarından alınan 1403 adet su numunesi mikrobiyolojik, 258 adet su numunesi kimyasal analizleri yapmak amacıyla araştırmanın materyalini oluşturdu (Tablo 1).

Kimyasal analiz için numune kapları olarak H₂SO₄ çözeltisi ile yıkanıp ve bidistile suyla temizlendikten sonra kurutulan cam şişeler kullanıldı. Mikrobiyolojik analiz için numune kapları, cam şişeler H₂SO₄ ile yıkanıp bidistile suyla temizlendikten sonra kuru sterilizasyonda sterilize edildi. Numuneler 2009 yılı Eylül ve 2011 yılı Nisan ayları arasında alındı. Mikrobiyolojik analizler için numune alınacak çeşmeler, numune almadan önce 5 d akıtıldı, muslukların ağzı alevden geçirildi, sonra su bir süre tekrar akıtılıp cam kavanozlara steril olarak dolduruldu (9).

Tablo 1. Su numunelerinin toplandığı yerler.**Table 1.** Areas where water samples are collected.

No	Numune Alım Noktaları	Suyun Geldiği Kaynaklar	Dağıtım Yaptığı Yerler
1.	Çeşme	D1 Su Deposu / Erzurum	Yenişehir / Yıldızkent
2.	Çeşme	TD2 Su Deposu/ Erzurum	D6 Su Deposu / Yurtlar
3.	Çeşme	D3 Su Deposu / Erzurum	A. Gazi Mah./ K.Yurdalan/Hasanibasri/Emirşeyh Mah.
4.	Çeşme	D4 Su Deposu / Erzurum	Mecidiye Mah./Aziziye Mah./Hilalkent/Şehitler Üst Kısmı
5.	Çeşme	D5 Su Deposu / Erzurum	Yunusemre/K.Yurdalan/Ertuğrulgazi/Topraktabiya/Kay akyolu/Yenişehir Alt Kısımları
6.	Çeşme	D6 Su Deposu / Erzurum	Yakutiye Bölgesi (büyük bir kısmı)/Şehir Merkezi Tümü
7.	Çeşme	D7 Su Deposu / Erzurum	Şükrüpaşa Sanayi /Şih Köyü/Dadaşkøy/Terminal
8.	Çeşme	D8 Su Deposu / Erzurum	Mahallebaşı/Ayazpaşa/Topçuoğlu/Kongre/50.Yıl Caddesi
9.	Çeşme	D9 Su Deposu / Erzurum	Sanayi Mah./Çevre Yolu/Sağucak Mah
10.	Çeşme	D10 Su Deposu / Erzurum	Dadaşkent ve Ilıcanın Tamamı
11.	Çeşme	D12 Su Deposu / Erzurum	Dumlunun Tamamı
12.	Çeşme	Sütevleri maslağı/ Erzurum	Maksutefendinin Tamamı
13.	Paşapınarı Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
14.	Solakzade Cami Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
15.	Şabakhane Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
16.	Dabakhane Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
17.	Ayazpaşa Cami Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
18.	Pervizoğlu Cami Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
19.	Taşhan Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
20.	Cennet Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
21.	Yazıcı Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
22.	Gez Cami Üst Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
23.	Gez Cami Alt Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
24.	Çamlık Cami Çeşmesi	Halk Çeşmeleri / Erzurum	
25.	Çeşme	Tortum	
26.	Çeşme	İspir	
27.	Çeşme	Tekman	
28.	Çeşme	Oltu	
29.	Çeşme	Pasinler	
30.	Çeşme	Karaçoban	
31.	Çeşme	Hınıs	
32.	Çeşme	Horasan	
33.	Çeşme	Olur	

Fiziksel Analizler

pH değerinin saptanması: Numunelerin pH değeri elektronik bir pH metre (Metler - Toledo GmbH, MP 225 model, Schwerzenbach- Switzerland) kullanılarak belirlendi.

İletkenlik tayini: Su numunelerinin iletkenliği Consort İletkenlik cihazı (Mes marka, K911 Model, Türkiye) kullanılarak saptandı.

Kimyasal Analizler

Nitrit miktarının tayini: Su numunelerinde nitrit varlığı Aquamate spektrofotometre cihazı ile (Merck 1.14776.0001) hazır kitleri kullanılarak saptandı.

Nitrat miktarının tayini: Su numunelerinde nitrat varlığı Aquamate spektrofotometre cihazı ile (Merck 1.09713.0001) hazır kitleri kullanılarak saptandı.

Amonyak miktarının tayini: Su numunelerinde amonyak varlığı Aquamate spektrofotometre cihazı ile (Merck 1.14752.0001) hazır kitleri kullanılarak saptandı.

Demir miktarının tayini: Su numunelerinde demir varlığı Aquamate spektrofotometre cihazı ile (Merck 1.14761.0001) hazır kitleri kullanılarak saptandı.

Arsenik miktarının tayini: Su numunelerinde arsenik varlığı optik emisyon spektrofotometre (ICP) cihazı kullanılarak saptandı.

Alüminyum miktarının tayini: Su numunelerinde alüminyum varlığı Aquamate spektrofotometre cihazı ile (Merck 1.14825.0001) hazır kitleri kullanılarak saptandı.

Kurşun miktarının tayini: Su numunelerinde kurşun varlığı optik emisyon spektrofotometre (ICP) cihazı kullanılarak saptandı.

Mikrobiyolojik Analizler

Koliform grubu bakteri

Koliform grubu bakterilerinin belirlenmesinde; önce numune lauryl tryptose broth (Oxoid, CM0451) içeren ve içinde gaz oluşumunu gösteren durham tüpü olan tüplere ekildi. Etüvde 35 °C'de 48 saat

inkübe edildi. 48 saat sonra gaz oluşan tüpler muhtemel koliform olarak kabul edildi. Gaz oluşturmeyen tüpler negatif kabul edildi.

Gaz oluşan şüpheli tüplerden, brilliant green lactose broth (Oxoid, CM0031) besiyeri ve durham tüpü olan tüplere ekildi. Etüvde 35 °C'de 48 saat inkübe edildi. 48 saat sonra gaz oluşan tüpler pozitif kabul edildi. Gaz oluşturmeyen tüpler koliform negatif kabul edildi.

E. coli

Koliform bakterisinin belirlenmesi amacıyla uygulanan, muhtemel sanılan lauryl tryptose broth (Oxoid, CM0451) besi yeri ve durham tüpü içeren tüplerde, gaz oluşmayan tüpler *E. coli* negatif kabul edildi. Gaz oluşan tüplerden EC broth (Oxoid, CM0853) besiyerine ekildi ve etüvde 44.5 °C'de 48 saat inkübe edildi. Gaz oluşmayan tüpler *E. coli* negatif kabul edildi. Gaz oluşan tüpler muhtemel *E. coli* olarak kabul edildi ve biyokimyasal testlerle doğrulama yapıldı.

Biyokimyasal Testler

Mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonunda; indol, metil red (MR), voges proskauer (VP) ve sitrat testlerinden yararlanıldı (10).

İndol Testi: Test için, Tryptone Water (Oxoid, CM 87) sıvı besi yeri kullanıldı. İzole edilen bakterinin taze kültüründen besiyerine inokulasyon yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda 0,5 ml kovaks indol ayırıcından (Merck, 1.09293) ilave edildi. Tüplerin üst kısmında 1-2 dakika içinde kiraz kırmızı bir halkanın oluşması indol pozitif (+), san-kahverengi halka oluşumu ise indol negatif (-) olarak değerlendirildi.

Metil Red Testi: Testte MR / VP Medium (Oxoid, CM43) kullanıldı. İzole edilen bakterinin taze kültüründen içinde 5 ml sıvı besiyeri bulunan tüplere inokulasyon yapılarak, 37 °C'de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon bitiminde 1-2 damla Metil Red solüsyonu damlatıldı. Besiyerinde belirgin kırmızı renkli bir halkanın meydana gelmesi pozitif (+), sarı-turuncu bir halka oluşması ise Metil Red testi negatif (-) olarak kabul edildi.

Voges Proskauer Testi: Testte MR / VP Medium (Oxoid, CM43) kullanıldı. İzole edilen bakterinin taze kültüründen içinde 5 ml sıvı besiyeri bulunan tüplere inokulasyon yapıldı ve 37 °C'de 48-72 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası üzerine 1 ml %40'lık potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ve 3 ml %5'lik a-naftol çözeltisi ilave edildikten sonra iyice karıştırılması sağlandı. 2-5 dakika içinde pembe rengin oluşması testin pozitif (+), sarı renk oluşumu ise negatif (-) olarak değerlendirildi.

Sitrat Testi: Testte, Simmons Citrate agar (Oxoid, CM 155 B) besi yeri kullanıldı. Yatık olarak hazırlanan besiyerine şüpheli bakterinin taze

kültüründen iğne uçlu öze ile alınan koloniler dibe daldırma ve yüzeye çizme yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası mavi renk oluşumu ve çizgi şeklinde üreme testin pozitif (+), orijinal yeşil renk ise negatif (-) olarak değerlendirildi.

Yapılan biyokimyasal testlerde; İndol (+), Metil Red (+), Voges Proskauer (-) ve Sitrat (-) olan bakteriler *E. coli* olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Su numunelerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 2'de, fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları da Tablo 3'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Su numunelerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları.
Tablo 2. Microbiological analysis results of water samples.

Çeşme/Depo/İlçe	Toplam Numune	<i>E. coli</i> 0/100 ml				Koliform Bakteri 0/100 ml			
		Üredi	%	Üremedi	%	Üredi	%	Üremedi	%
Tortum	87	10	11.5	77	88.5	10	11.5	77	88.5
Olur	12	1	8.3	11	91.7	1	8.3	11	91.7
Uzundere	12	1	8.3	11	91.7	1	8.3	11	91.7
Köprüköy	119	43	36.1	76	63.9	43	36.1	76	63.9
Karaçoban	63	0	0	63	100	0	0	63	100
Oltu	211	11	5.2	200	94.8	11	5.2	200	94.8
Tekman	19	3	15.8	16	84.2	3	15.8	16	84.2
Horasan	213	10	4.7	203	95.3	10	4.7	203	95.3
Hınıs	31	7	22.6	24	77.4	7	22.6	24	77.4
Aşkale	24	11	45.8	13	54.2	11	45.8	13	54.2
Pasinler	73	18	24.7	55	75.3	18	24.7	55	75.3
Genel İlçeler	864	115	13.3	749	86.7	115	13.3	749	86.7
D1 Su Deposu	60	2	3.3	58	96.7	2	3.3	58	96.7
TD2 Su Deposu	10	0	0	10	100	0	0	10	100
D3 Su Deposu	60	0	0	60	100	0	0	60	100
D4 Su Deposu	15	0	0	15	100	0	0	15	100
D 5 Su Deposu	90	0	0	90	100	0	0	90	100
D 6 Su Deposu	151	0	0	151	100	0	0	151	100
D7 Su Deposu	18	0	0	18	100	0	0	18	100
D8 Su Deposu	12	0	0	12	100	0	0	12	100
D9 Su Deposu	10	0	0	10	100	0	0	10	100
D10 Su Deposu	39	0	0	39	100	0	0	39	100
D12 Su Deposu	12	0	0	12	100	0	0	12	100
Sütevleri maslağı	14	0	0	14	100	0	0	14	100
Genel Depolar	491	2	0.4	489	99.6	2	0.4	489	99.6

Tablo 2. Su numunelerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları (DEVAMI).**Table 2.** Microbiological analysis results of water samples (RESUME).

Çeşme/Depo/ilçe	Toplam Numune	<i>E. coli</i> 0/100 ml				Koliform Bakteri 0/100 ml			
		Üredi	%	Üremedi	%	Üredi	%	Üremedi	%
Solakzade Cami Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Paşapınarı Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Şabakhane Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Dabakhane Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Ayazpaşa Cami Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Pervizoğlu Cami Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Taşhan Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Cennet Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Yazıcı Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Gez Camii Üst Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Gez Camii Alt Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Çamlık Camii Çeşmesi	4	0	0	4	100	0	0	4	100
Çeşmeler Toplam	48	0	0	48	100	0	0	48	100
Genel Toplam	1403	117	8.34	1286	91.66	117	8.34	1286	91.66

Tablo 3. Su numunelerinin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.**Table 3.** Physical and chemical analysis results of water samples.

Çeşme/Depo/ilçe	Renk (N)	Bulanıklık (N)	Koku (N)	Tat (N)	pH	iletkenlik 6.5-9.5 2500µS/cm	Nitrit 0.5 mg/L	Nitrat 50 mg/L	Amonyak 0.5 mg/L	Demir 0.2 mg/L	Arsenik 10 µg/l	Alüminyum 0.2 mg/L	Kurşun 10 µg/l
Tortum	N	N	N	N	7.86	402.5	0.06	14.62	0.16	0.12	0.017	0.12	0.044
İspir	N	N	N	N	7.24	280.3	0.08	15.30	0.14	0.10	0.040	0.10	0.036
Tekman	N	N	N	N	7.49	616.7	0.05	15.86	0.17	0.08	0.039	0.07	0.091
Oltu	N	N	N	N	7.04	421.6	0.08	17.40	0.15	0.10	0.036	0.11	0.061
Pasinler	N	N	N	N	7.35	581.4	0.14	18.31	0.15	0.07	0.043	0.12	0.064
Karaçoban	N	N	N	N	7.46	622.3	0.11	17.6	0.13	0.11	0.032	0.14	0.049
Hınıs	N	N	N	N	7.31	627.9	0.11	17.19	0.14	0.08	0.063	0.09	0.035
Horasan	N	N	N	N	7.02	606.8	0.14	20.40	0.13	0.10	0.148	0.08	0.133
Olur	N	N	N	N	7.66	554.1	0.11	21.24	0.13	0.09	0.074	0.11	0.042
İlçeler Ortalama	N	N	N	N	7.38	523.7	0.10	17.55	0.14	0.09	0.055	0.10	0.062
D1 Su Deposu	N	N	N	N	7.43	450.4	0.07	16.09	0.22	0.14	0.024	0.12	0.032
TD2 Su Deposu	N	N	N	N	7.20	275.5	0.07	18.94	0.31	0.11	0.028	0.10	0.032
D3 Su Deposu	N	N	N	N	7.20	306	0.08	15.78	0.20	0.14	0.031	0.12	0.068
D4 Su Deposu	N	N	N	N	7.28	373.1	0.07	17.58	0.30	0.12	0.032	0.10	0.039
D5 Su Deposu	N	N	N	N	7.27	328	0.07	17.84	0.25	0.07	0.024	0.08	0.118
D6 Su Deposu	N	N	N	N	7.28	276.1	0.08	17.61	0.32	0.14	0.045	0.12	0.097
D7 Su Deposu	N	N	N	N	7.25	306	0.07	17.07	0.26	0.12	0.039	0.11	0.076
D8 Su Deposu	N	N	N	N	7.22	332.3	0.08	17.41	0.30	0.10	0.032	0.12	0.048

Tablo 3. Su numunelerinin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları (DEVAMI).
Table 3. Physical and chemical analysis results of water samples (RESUME).

Çeşme/Depo/ilçe	Renk (N)	Bulanıklık	Koku (N)	Tat (N)	pH	iletkenlik 6.5-9.5 2500µS/c	Nitrit 0.5 mg/L	Nitrat 50 mg/L	Amonyak 0.5 mg/L	Demir 0.2 mg/L	Arsenik 10 µg/l	Alüminyum m	Kurşun 10 µg/l
D9 Su Deposu	N	N	N	N	7.23	288.5	0.07	17.64	0.29	0.11	0.040	0.11	0.051
D10 Su Deposu	N	N	N	N	7.21	279.9	0.08	17.71	0.29	0.10	0.029	0.08	0.058
D12 Su Deposu	N	N	N	N	7.35	443.2	0.08	15.92	0.16	0.09	0.014	0.09	0.063
Sütevleri maslağı	N	N	N	N	7.24	329.3	0.08	18.40	0.26	0.10	0.040	0.10	0.058
Depolar	N	N	N	N	7.26	332.4	0.08	17.33	0.26	0.11	0.032	0.10	0.062
SolakzadeCamii	N	N	N	N	7.26	149.6	0.073	15.48	0.14	0.222	0.015	0.14	0.024
Paşapınarı	N	N	N	N	6.98	135.8	0.07	16.05	0.13	0.12	0.014	0.132	0.033
Şabakhane	N	N	N	N	7.21	806.2	0.07	127.6	0.14	0.12	0.015	0.145	0.014
Dabakhane	N	N	N	N	7.38	431	0.087	64.56	0.14	0.115	0.014	0.147	0.009
Ayazpaşa Camii	N	N	N	N	7.29	653.5	0.07	100.3	0.12	0.112	0.025	0.135	0.017
Pervizoğlu	N	N	N	N	7.28	656.25	0.07	93.77	0.25	0.115	0.027	0.142	0.017
Taşhan Çeşmesi	N	N	N	N	7.28	654.5	0.073	95.31	0.15	0.115	0.033	0.153	0.033
Cennet Çeşmesi	N	N	N	N	7.27	656.25	0.07	93.62	0.15	0.12	0.018	0.133	0.036
Yazıcı Çeşmesi	N	N	N	N	7.35	477.5	0.07	44.83	0.13	0.12	0.039	0.138	0.04
Gez Camii Üst	N	N	N	N	7.39	476.5	0.073	43.10	0.14	0.12	0.012	0.17	0.012
Gez Camii Alt	N	N	N	N	7.40	477	0.07	43.84	0.14	0.113	0.024	0.165	0.017
Çamlık Cami	N	N	N	N	7.42	476.5	0.07	44.01	0.143	0.117	0.034	0.147	0.029
Çeşmeler	N	N	N	N	7.29	504.2	0.07	65.22	0.15	0.12	0.022	0.145	0.023
Genel Ortalama	N	N	N	N	7.31	429.56	0.08	26.39	0.20	0.108	0.038	0.110	0.054

TARTIŞMA ve SONUÇ

pH değerleri: yönetmelikte (7,8), sulardaki pH değerinin “>6.5 ve <9.5 birimleri arasında olması, suyun aşındırıcı olmaması gerektiği ve ayrıca şişelere ya da kaplara konulan sular için minimum pH değerinin 4.5 olabileceği” ifade edilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin pH değerleri ortalama sırasıyla, 7.29, 7.26, 7.38 olarak belirlenmiştir. Numunelerin pH değerleri araştırmacıların (11,12) elde ettiği değerlerle uyumludur.

Bulanıklık ve renk değerleri: Yönetmelikte (7,8) sulardaki bulanıklık “tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi bir anormal değişimin olmadığı ve yüzeysel suyun arıtılması durumunda arıtmadan sonra sudaki bulanıklığın 1.0 NTU aşılması” ve sulardaki renk değerinin “tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi

bir anormal değişim olmaması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinde bulanıklık ve renk değerlerinin tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi bir anormal değişimin olmadığı belirlenmiştir.

Koku ve tat değerleri: Yönetmelikte (7,8) sulardaki koku ve tat değerlerinin “tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi bir anormal değişim olmaması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin koku ve tat değerlerinin kokusuz ve tatsız olduğu belirlenmiştir.

İletkenlik değerleri: Yönetmelikte (7) sulardaki iletkenlik (EC) “20 °C’de 2500 µS/cm değerini aşmaması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin EC değerleri ortalama sırasıyla, 504.2 µS/cm, 332.4

$\mu\text{S}/\text{cm}$ ve $523.7 \mu\text{S}/\text{cm}$ olarak belirlenmiştir. Numunelerin iletkenlik değerleri araştırmacıların (13-16) elde ettiği değerler uyumludur.

Nitrit değerleri: Yönetmelikte (7,8) sulardaki nitrit miktarının "0.50 mg/l değerini aşmaması" gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin nitrit değerleri ortalama sırasıyla, 0.07 mg/l, 0.08 mg/l, 0.10 mg/l olarak belirlenmiştir. Sulardaki nitritin kaynağını, organik maddeler, azotlu gübreler ve tabiattaki bazı mineraller oluşturmaktadır. Azotun, amonyak aracılığı ile oksidasyonundan nitrit oluşur. Dolayısıyla nitritin oluşumu sudaki oksijeni azaltan bir nedendir. Azotun dolayısıyla nitritin diğer olumsuz etkisi de nitrifikasyon sebebi ile sulara ötrafikasyona neden olmasıdır. Bu olay sulara kirliliği artıran bir faktördür. Sulara nitrit tespit edilmesi, bu sulara kanalizasyon atıklarının karıştığına işaretidir (17). Sulara nitritin varlığı sağlık açısından önemlidir. Çünkü nitrit, asidik ortamda nitrozaminler ve nitrozamidleri oluşturur. Yönetmelikte (7,8) sulardaki nitritin "0.50 mg/l değerini aşmaması ve kullanılmış su arıtma işleminden sonra 0.1 mg/l değerinde" olması gerektiği bildirilmektedir. WHO (3), sulardaki nitritin 3 mg/l olması halinde akut hastalıklara, 0.2 mg/l olması halinde kronik hastalıklara neden olacağını bildirmektedir. Koçak (18) Erzurum il merkezindeki içme ve kullanma sularında, nitrit değerini 0.01-0.50 mg/l (ortalama 0.03), kuyu sularında 0.07 mg/l, su depolarından gelen sulara ortalama 0.02 mg/l olarak tespit ettiğini, kuyu sularının nitrit değerlerinin depo sularına göre önemli düzeyde yüksek olduğunu saptamıştır.

Nitrat değerleri: Yönetmelikte (7,8), sulardaki nitrat miktarının "50 mg/l değerini aşmaması" gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin nitrat değerleri ortalama sırasıyla 34.55 mg/l, 17.33 mg/l, 17.55 mg/l olarak belirlenmiştir. Nitrat düzeyinin halk çeşmelerinin (12 çeşmenin) 6'sında (%50) ortalama 95.88 mg/l, olarak belirlenmiştir. Halk çeşmelerinin 6'sı Yönetmelikte

(7,8) bildirilen değerlerin üstünde olduğu, dolayısıyla uygun olmadığı belirlendi. Nitrat değerinin yüksek çıkması muhtemelen, tarımsal faaliyetlerde kullanılan nitratlı gübrelerin yağmur suları ile kaynaklara ulaşması ve/veya evsel ve endüstriyel atık suların karışmasından kaynaklanmıştır. Toprakta ve yeraltı sularında nitrat birikimine, azotlu mineral ve tabii gübrelerin bilinçsizce, normların çok üzerinde ve sürekli artırılarak kullanılması, evsel ve endüstriyel atık sular veya hayvansal atıklar neden olabilmektedir. Kaplan ve ark. (19), Kumluca yöresi kuyu sularının nitrat içeriklerini 2.46-164.91 mg/l değerleri arasında tespit etmişlerdir. Yöredeki kuyu sularında nitrat kirlenmesinin çok önemli düzeye ulaştığı, 45 mg/l olarak ele alınan sınır değerinin üzerinde nitrat içeren örnek oranının %50 seviyesinde olduğunu saptamışlardır. Birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülkede de evsel ve endüstriyel atıklar ile nitratlı gübrelerin kullanımı nedeniyle sulara nitrat miktarı; Dünya Sağlık Örgütü (WHO) (3,4), Çevre Koruma Ajansı (EPA) (5) ve Avrupa Birliği (AB) (6) gibi uluslararası kuruluşlarca içme ve kullanma sularında izin verilen nitrat miktarlarından fazladır. Bu durum dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir. Sürekli yüksek nitrat içerikli su tüketen kişilerde bazı hastalıkların (örn., diyabet ve guatr) insidansında artış olabilmektedir.

Amonyak değerleri: Yönetmelikte (7,8), sulardaki amonyum miktarının "0.50 mg/l değerini aşmaması" gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin amonyum değerleri ortalama sırasıyla, 0.150 mg/l, 0.26 mg/l, 0.14 mg/l olarak belirlenmiştir. İçme suyunda bulunan amonyak konsantrasyonu, organik kökenli kirlenmenin göstergesidir. Amonyanın canlılara toksik etkisi, oksijen eksikliği, sıcaklık artışı ve diğer toksik maddelerin bulunması ile daha da artar.

Demir değerleri: Yönetmelikte (7), sulardaki demir miktarının "0.2 $\mu\text{g}/\text{l}$ değerini aşmaması" gerektiği bildirilmektedir. WHO (3,4), sulardaki demir miktarının 0.3 $\mu\text{g}/\text{l}$ değerini aşmaması gerektiğini

bildirmiştir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin demir değerleri ortalama sırasıyla, 0.117 µg/l, 0.11 µg/l, 0.09 µg/l olarak saptandı. Demir düzeyinin halk çeşmelerinin (12 çeşmenin) 1 tanesinde (%8.3) 0.222 µg/l miktarında olduğu belirlenmiştir. Demir miktarının yüksek çıkmasının nedeni olarak; maden, metal sanayi, tarımsal ilaçlama ve gübreleme ile küçük sanayi siteleri ile içme suyu borularının yıpranmasının etkili olabileceği düşünülmektedir. Demirin kronik olarak vücuda alınmasının genetik bozukluklara da neden olabileceği bildirilmiştir (3).

Arsenik değerleri: Yönetmelikte (7), sulardaki arsenik miktarının “10 µg/l değerini aşmaması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin arsenik değerleri ortalama sırasıyla, 0.022 µg/l, 0.032 µg/l ve 0.055 µg/l olarak belirlenmiştir. Arsenik, saf ve diğer maden bileşikleriyle doğada yaygın bir şekilde bulunur. Kolaylıkla su, bitki ve dolayısıyla gıdalara geçebilir. Çevrede bulunan arsenikli atıklar doğal koşullara çok dayanıklı olduğundan kalıcı kirlenmeler oluşturmaktadır. Arsenikle zehirlenmenin yaygın ve sık olmasının nedeni, bileşiklerin çoğunluğu kokusuz, tatsız olması, endüstriden tarımsal ilaçlara kadar yaygın kullanım alanının olmasından ileri gelmektedir. Bununla birlikte, 2 µg/kg’ dan fazla arsenik içeren gıdalar ile 0.2 µg/l’ den fazla arsenik içeren suların tüketilmesi, özellikle yenilebilir dokularda bu metalin birikimi söz konusu olacağından tehlikeli kabul edilmektedir. Suyu genellikle maden ocakları ve metalürjik işletmelerin atık sularından karıştır. Tarımda herbisit olarak kullanılan bazı arsenikli ilaçlarda zamanla suya geçer. Arsenik insan vücudu için olduğu kadar, bütün canlılar için de toksik bir elementtir.

Alüminyum değerleri: Yönetmelikte [7,8], sulardaki alüminyum miktarının “200 µg/l değerini aşmaması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin

alüminyum değerleri ortalama sırasıyla, 0.145 mg/l, 0.10 mg/l ve 0.10 mg/l olarak belirlenmiştir. Alüminyum, suya bulanık mavimsi renk verir. Sudaki alüminyum fazlalığı su arıtımında aşırı alüminyum sülfat kullanılmasından, endüstriyel kirlenmeden veya toprak yapısından kaynaklanabilir.

Kurşun değerleri: Yönetmelikte [7,8], sulardaki kurşun miktarının “İçme-kullanma suları için 10 µg/l değerini aşmaması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri, Erzurum il merkezi ve ilçe merkezlerindeki çeşmelerden temin edilen su numunelerinin kurşun değerleri ortalama sırasıyla, 0.023 µg/l, 0.062 µg/l ve 0.062 µg/l olarak belirlenmiştir. Kurşun, sulara çevre kirliliği sonucunda karışır. Yanma olayları ve özellikle kurşunlu benzinin yanması sonucu atmosfere karışan kurşun çevreye dağılır ve yağış suları ile akarsuları ve yeraltı sularını kirletir.

Koliform bakteri: Yönetmelikte (7,8), sulardaki koliform bakteri miktarının “0/100 ml değerini olması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmelerinin 48 adedinde koliform bakteri üremesi negatif bulunurken, Erzurum il merkezi 491 adet ve ilçe merkezlerindeki 864 adet su numunesinde koliform bakteri üremeleri sırasıyla, 2 (%0.4), 115 (%13.31) numunede tespit edilmiştir. Alemdar ve ark. [20], Bitlis ili içme sularında, incelenen örneklerde koliform bakterilerin pozitiflik oranını %12 (19/164) olarak belirlemişler, en yüksek bulunma oranının %24 (7/29) ile Tatvan ilçesindeki musluk sularında tespit etmişlerdir. Adilcevaz, Hizan ve Tatvan ilçelerindeki depo ve musluk sularında sırasıyla %14 ve %12, %17 ve %10, %18 ve %24’ü; merkez ve Güroymak ilçelerindeki musluk sularında sırasıyla %10 ve %8’i, Ahlât ilçesindeki depo sularının %17’sinde koliform bakteri tespit etmişlerdir.

Yönetmelikte (7,8) sulardaki *E. coli* miktarının “0/100 ml olması” gerektiği bildirilmektedir. Halk çeşmeleri 48 adedinde *E. coli* üremesi yönünden negatif olarak bulunurken, Erzurum il merkezi 491 adet ve ilçe merkezlerindeki 864 adet çeşmelerden temin edilen su numunelerinde *E. coli* üremeleri sırasıyla 2 (%0.4), 115 (%13.31) numunede tespit edilmiştir. Erzurum il merkezinde 2 ve ilçelerden 115

numunede *E. coli* üremesi ve koliform grubu mikroorganizma tespit edildiğinden söz konusu numunelerin Yönetmeliğe (7,8) uygun olmadığı belirlendi. Şebeke suyu kaynaklarına kanalizasyon veya hayvan dışkılarının karışması ve su depolarında dezenfeksiyon işleminin yetersizliği nedeniyle söz konusu numunelerde koliform grubu bakterisi ve *E. coli* üremesi olduğu sanılmaktadır. Su depolarının ve kaynaklarının bulduktan bölgelerin yeterince korunamadığı için bu bölgeler evcil veya vahşi hayvanların dışkıları ile kirlenebilmekte buralarda fekal kirlilikler ortaya çıkabilmektedir.

Araştırmada, Erzurum merkez halk çeşmeleri ve şebeke suları ile ilçe merkez şebeke suları bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından incelenmiştir. Su numuneleri incelenen parametreler açısından genellikle yönetmeliklere uygun bulunmuştur. Bu durum özellikle bölgenin nispeten sanayi bölgelerine uzaklığı, doğal sularının zenginliği ve konvansiyonel tarım sistemlerinin yaygın olmamasıyla yakından ilişkilidir. Çok sınırlı sayıda numunede yönetmeliğe uygun olmayan parametreler de ortaya çıkmıştır.

Depoların usulüne uygun dizayn edilmesi ve en az yılda bir kez depo temizliğinin yapılması gerekmektedir. İç şebeke sistemlerinin ve muslukların uzun yıllar kullanılması sonucunda potansiyel olarak mikrobiyolojik kirlilik olabileceği düşünülmektedir. Muslukların mümkün olduğu kadar mikrobiyolojik gelişmeye yer vermeyecek malzemelerden yapılması gerekmektedir. Ayrıca musluk ağızlarına elle temasından kaçınılmalı ve çok uzun süre kullanımda olan muslukların mikrobiyolojik kirlilik bakımından potansiyel bir risk taşıdığı unutulmamalıdır. Su kesintilerinin yaşandığı dönemlerde mikrobiyolojik kirlenme ortaya çıkabilmektedir. Bu dönemlerde su kesintisi olan bölgelerde ilgili kurumların gerekli uyarıları yapması alınabilecek başka bir tedbirdir. Suların doğru bir şekilde dezenfekte edilmesi halk sağlığı açısından önemli bir zorunluluktur. Su depolarının ve kaynaklarının buldukları bölgelerin yeterince korunamamasından dolayı bu bölgeler evcil veya vahşi hayvanların dışkıları ile kirlenebilmekte

buralarda fekal kirlilikler ortaya çıkabilmektedir. Su temini sistemlerinin sızıntı sularından etkilenmemesi için evsel katı atıkların uygun şekilde toplanıp depolanacağı alanların belirlenerek, atıkların bu bölgelerde depolanmasının sağlanması ve bu yerlerin kontrol altına alınması gerekmektedir. İnsanların suyun önemi ve hijyeni konularında eğitilmesi ve aydınlatılması için yayınlar, broşürler çıkarılmalı, radyo ve televizyon programları düzenlenmelidir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Munsuz N., Ünver I., 1995. Su Kalitesi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yay. No: 1389, Ders Kitabı: 403, Ankara.
2. Öztürk A., 2006. İçme ve kullanma suyu temini, aranan özellikler ve arıtımı. Dizayn Konstrüksiyon 246: 100-111.
3. WHO, 2006. Chemical aspects, guidelines for drinking water quality, first addendum to third edition Volume 1, 296-460. World Health Organization, Geneva.
4. WHO, 1996. Iron in drinking water, background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Vol. 2 Health criteria and other supporting information, World Health Organization, Geneva.
5. EPA, 2009. 816-F-09-004, National primary drinking water regulations. United States Environmental Protection Agency. EPA 816-F-09-004 May 2009
6. Commission Directive (EU), 2018. The drinking water directive (Council Directive) Brussels, 1.2.2018 COM (2017) 753 final.
7. Resmi Gazete, 2005. İnsani tüketim amaçlı sular hakkındaki yönetmelik. 17 Şubat 2005, Sayı: 25730.
8. Resmi Gazete, 2013. İnsani tüketim amaçlı sular hakkındaki yönetmelikte değişiklik yapılmasına dair yönetmelik. 7 Mart 2013, Sayı: 28580.
9. Tekinşen, OC., 1976. Suyun bakteriyolojik

- muayenesi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
10. Özdemir S., Sert S., 2001. Gıda mikrobiyolojisi tatbikat notları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ofset Tesisi, Erzurum.
11. Dayıoğlu H., Özyurt SM., Bingöl N., Yıldız C., 2004. Kütahya İli içme sularının bazı fiziksel, kimyasal ve bakteriyolojik özellikleri. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bil Enst Derg, 7, 12-14.
12. Karadavut Sİ., 2007. Melendiz havzası yüzey ve yer altı suyu kirliliğinin araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendiliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.
13. Hınıs M., 2007. Aksaray İli içme suyu kaynaklarının arıtma öncesi organik madde miktarı bakımından incelenmesi ve değerlendirilmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
14. Sarcan A., 2008. Konya İli Hadim ilçesi kullanım sularının kalitesinin belirlenmesi ve dezenfeksiyon yönteminin etkinliğinin araştırılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendiliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
15. Süphandağ AŞ., Uyguner SC., Bekbölet M., 2007. İstanbul'da tüketilen ticari ve şebeke bazlı içme sularının kimyasal ve spektroskopik profilleri. İtüdergisi/e, Su Kirlenmesi Kontrolü, 17, 23-35.
16. Tofan S., 2008. Konya bölgesindeki içme sularında metal tayini. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
17. Demirer A., 1995. Su Hijyeni. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Ders Notları Ankara.
18. Koçak Ö., 2007. Erzurum İl merkezindeki içme ve kullanma sularının kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik kalitesi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
19. Kaplan M., Sönmez S., Tokmak S., 1999. Antalya Kumluca yöresi kuyu sularının nitrat içerikleri. Tr.J. of Agriculture and Forestry, 23, 309-313.
20. Alemdar S., Kahraman T., Ağaoğlu S., Alışarlı M. 2009. Bitlis İli içme sularının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri. Ekoloji, 19, 29-38.



Erzurum Yöresi Sığırlarında Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)'un Varlığının İmmunohistokimyasal Yöntemle Araştırılması *

Gökşad Cemil KOTAN^{1a}, Mustafa ÖZKARACA^{1b}✉

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0001-7064-917X^a, 0000-0002-6359-6249^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
28.11.2018	28.03.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Kotan GC, Özkara M: Erzurum Yöresi Sığırlarında Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)'un Varlığının İmmunohistokimyasal Yöntemle Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 170-175, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.489006

Öz: Bu çalışmada Erzurum ve yöresindeki sığırlarda Bovine Viral Diarrhea Virus ile enfekte sığırların immunohistokimyasal olarak teşhisine yönelik epidemiyolojik bir çalışma yapılması amaçlanmıştır. Irk, cinsiyet, ağırlık vb. ayrımı yapılmadan kesimi gerçekleştirilen 100 adet sığır'dan alınan ileum örnekleri immunohistokimyasal incelemeye tabi tutuldu. Makroskobik olarak herhangi bir patolojik bulgu göstermeyen örneklerin immunohistokimyasal incelemelerinde %27 oranında Bovine Viral Diarrhea viral antijeni tespit edildi. Pozitif olarak tespit edilen örneklerin tamamında lamina propria'da BVDV viral antijenleri tespit edildi. Belirlenen immunpozitiflikler lamina propria'nın villuslara yakın kısmında ve kriptler ile peyer plakları arasındaki yangısal hücre infiltrasyonlarında intrasitoplazmik olarak bulunmaktaydı. Ayrıca 21 örnekte peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde, 19 örnekte lamina epitelyalis'te, 14 örnekte ise kript epitellerinde Bovine Viral Diarrhea Virus immunpozitifliği belirlendi. Sonuç olarak; Bovine Viral Diarrhea Virus'un immunohistokimyasal olarak teşhisine yönelik Erzurum ve yöresinde epidemiyolojik bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışma ile Erzurum ve yöresinde sığırlarda %27 oranında Bovine Viral Diarrhea Virus immunpozitifliği bulunmuş ve sığır yetiştiriciliği açısından önemli bir etken olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: BVDV, İleum, İmmunohistokimya, Sığır.

Immunohistochemical Investigation of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in Cattle in Erzurum Region

Abstract: Breed, sex, weight, etc. immunohistochemical examinations of the ileum specimens taken from 100 cattle breeding animals that had been cut without discrimination were subjected to microscopic, and immunohistochemical examinations. Bovine Viral Diarrhea Virus viral antigen was detected in 27% (27 samples) of immunohistochemical analysis of specimens without any pathological findings macroscopically. BVD viral antigens were detected in lamina propria in all of the samples identified as positive. BVDV immunopositivity was found intracytoplasmically in the section near the villus of the lamina propria and in the inflammatory cell infiltrations between the crypts and the peyer plaques. BVDV immunopositivity was determined in lymphoid cells in Peyer plaques in 21 samples, in lamina epithelialis in 19 samples and in crypt epithelium in 14 samples. As a conclusion, an epidemiological study has not been conducted for the immunohistochemical diagnosis of Bovine Viral Diarrhea Virus in Erzurum and its region. In this study, BVDV immunopositivity was found in 27% of cattle in Erzurum and its region and it was determined that it was an important agent for cattle breeding.

Keywords: BVDV, Cattle, Ileum, Immunohistochemistry.

✉ Mustafa Özkaraca

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: mustafa.ozkaraca@atauni.edu.tr

*Bu makale "Erzurum Yöresi Sığırlarında Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)'un Varlığının İmmunohistokimyasal Yöntemle Araştırılması" isimli yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Flaviviridae ailesinin, Pestivirus genusuna ait, rekombine olabilen bir RNA virusudur (1). BVDV kaynaklı enfeksiyonlar ilk kez 1946 yılında Olafson ve ark. tarafından tanımlanmıştır (2). Klinik olarak, ateş, gastroenteritis, diyare, ağızda lezyonlar ve lökopeni gibi belirtiler gösteren, persiste akut bir enfeksiyondur. Virüs iki hafta boyunca doğrudan temas, vücut salgıları veya kontamine aletler yoluyla bulaşabilir (3). Klinik olarak BVDV'nin oral ve/veya nasal olarak bulaşmasından sonra, etken primer olarak oropharynx bölgesinde çoğalmaya başlar (4). Oronazal mukoza epitellerinde, primer çoğalma sonucunda, mukozada ülser görülebilir. Etken daha sonra fagositik hücreler tarafından lenfoid dokulara taşınır (5). Vücudun tamamına yayılması viremi neticesinde ortaya çıkar ve bu süreç boyunca birkaç gün depresyon, ateş, ishal ve lökopeni tabloları ile karşılaşılabilir (6). Burun akıntısı, salya artışı, mukozalarda ülserler ve kript hücrelerinde ve bağırsak lenfoid dokularında nekrozlar ortaya çıkar. Persiste enfeksiyon olarak seyrettiği durumlarda ise abortlara, fötusta gelişim yetersizliği ve defektlere neden olmaktadır (7).

BVDV'nin teşhisinde Peroksidaz Linked Antibody (PLA) (8), Direkt Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) (9), Immunofloresan Test (IF) (10), ve Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction (RT-PCR) (11) testleri kullanılabilir. Serolojik teşhis için ise Virus Nötralizasyon Test (VNT) (12) ve Nötralizasyon Peroksidaz Linked Antibody (NPLA) (13) testleri mevcuttur.

Bu çalışma ile Erzurum ve yöresindeki sığırlarda BVDV'nin, serolojik çalışmalardan farklı olarak, özellikle persiste enfekte sığırlarda immunohistokimyasal olarak teşhisine yönelik epidemiyolojik bir çalışma yapılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

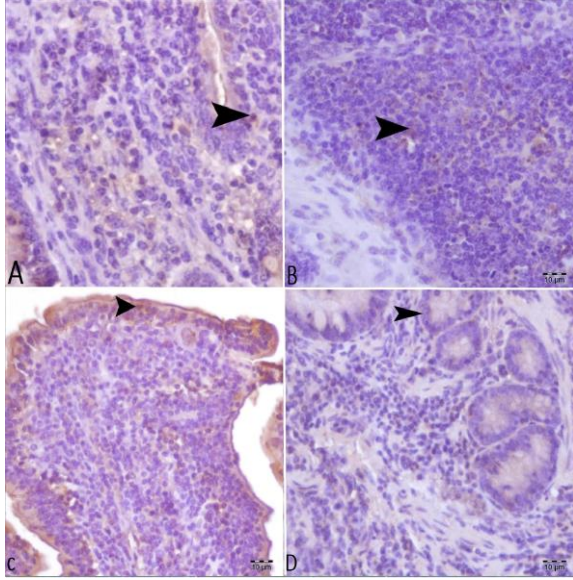
Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Alt Kurulu tarafından onaylandı (Karar

Tarihi:31/08/2015, Sayısı: 2015/11). Çalışma materyalini Erzurum ilinde bir mezbahada 2015 Ekim-Aralık ayları arasında ırk, cinsiyet, ağırlık vb. ayrımı yapılmaksızın kesime alınan yetişkin sığırlardan alınan örnekler oluşturdu. Bu amaçla makroskopik olarak herhangi bir patolojik bulgu göstermeyen 100 ileum örneği toplandı. Alınan ileum örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin işlemlerden geçirilen dokular parafin bloklara alındı. Bloklardan 5 µ kalınlığında alınan kesitler normal ve polilizinli lamlara alındı. Boyama; Streptavidin-Biotin Kompleks metoduna göre ilgili firmanın önerdiği şekilde yapıldı (LSAB+ System- HRP, DAKO Carpinteria, USA). Bu amaçla polilizinli lamlara alınan 5 µm' lik kesitler ksilol ve alkol serilerinden geçirildi. Kesitler Phosphate Buffer Solution (PBS) ile yıkandıktan sonra %3'lük H₂O₂'de 10 dk. tutularak endojen peroksidaz inaktivasyonu sağlandı. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak amacıyla antijen retrieval solüsyonu (Abcam, Katalog no. ab93678) ile mikrodalga fırında 2x5 dk 500 watt' da muamele edildi. PBS ile yıkanan dokular Anti-BVD anti-serumu (VMRD, Katalog no. 210-70-BVD) ile 37° C de 1/500 dilüsyon oranında 30 dk süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda PBS ile yıkanan dokular biyotinlenmiş antikör ve Streptavidin-HRP'de 15'er dk bekletildi. Kromojen olarak 3,3 diaminobenzidine kullanıldı. Daha sonra Mayer's Hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. Kesitler üzerine entellan damlatılarak ışık mikroskopunda BVDV viral antijenleri var (+), yok (-) olarak incelendi. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile BVDV pozitifliği konfirme edilmiş parafin bloktaki akciğer örneği pozitif kontrol olarak kullanıldı.

BULGULAR

İmunohistokimyasal olarak boyaması yapılan 100 ileum örneğinin 27' sinde (%27) BVDV viral antijenleri tespit edildi. Pozitif olarak tespit edilen örneklerin tamamında lamina propria'da BVDV viral antijenleri tespit edildi. Belirlenen immunpozitiflikler

lamina propria'nın villuslara yakın kısmında ve kriptler ile payer plakları arasındaki yangısal hücre infiltrasyonlarında intrasitoplazmik olarak bulunmaktaydı. Ayrıca 21 örnekte payer plaklarındaki lenfoid hücrelerde, 19 örnekte lamina epitelyalistе, 14 örnekte ise kript epitellerinde BVDV immunpozitifliği belirlendi (Şekil 1).



Şekil 1. A, Lamina propria'da villuslara yakın bölgedeki yangısal hücrelerde, B, Peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde, C, Lamina epitelyalis' te, D, Kript epitel hücrelerinde BVDV immunpozitifliği (ok başı). IHC.

Figure 1. A, BVDV immunopositivity in inflammatory cells in the region close to the villi in the lamina propria B, in lymphoid cells in Peyer's plaques, in lamina, C, in lamina epithelialis, D, in cript epithelia cells (arrowhead). IHC.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sığırlar arasında geniş bir yayılım gösteren BVDV ile hayvanların büyük bir çoğunluğu yaşamlarının ilk yılında etken ile karşılaşmaktadır (14) Ülkemizde BVDV'un varlığı ile ilgili olarak çeşitli çalışmalar yapılmış olup bunlar ağırlıklı olarak serolojik özelliktedir (15-21).

Yapılan bu çalışmalar neticesinde, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde %96.8 (15), Kuzeydoğu Anadolu Bölgesinde %81.62 (16), Aydın Yöresinde %86 (17), Samsun, Sivas, Tokat illerini

kapsayan bölgede %20.19 (18), Muğla yöresinde %49.9 (20), Konya ve çevresinde %90.63 (21), Afyonkarahisar'da %84.6 (19) oranlarında seropozitiflik bulunmuştur. Sunulan çalışmada ise sığırlar ince bağırsaklarında BVDV'un (100/27) %27 oranında bulunduğu tespit edilmiştir. Bu durum önceki yapılan çalışmaların serolojik özellikte olması ve kullanılan yöntemlerin farklılığı ile ilişkilendirilmiştir.

Gebelikte BVDV'a maruz kalan fötüs yaşamaya devam ederse virusa karşı bir tolerans geliştiği ve ömür boyu enfekte kaldığı bildirilmiştir. Böyle buzağlarda virusa karşı immun yanıt olmamaktadır. Bu tür hayvanlar etrafa sürekli virus saçabilmektedir. Bu durum persiste tolerant enfeksiyon olarak tanımlanmış olup, sürüdeki duyarlı diğer sığırlara etkenin bulaştırılmasında önemli rol oynamaktadırlar (22,23). Sunulan çalışmada pozitif olguların tespit edildiği sığırların ince bağırsaklarında herhangi bir makroskopik lezyon göstermemesi persiste enfeksiyon olabilme durumunu düşündürmüştür.

Etkenin teşhisine yönelik çeşitli virüs izolasyonu, immunohistokimya gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (24-26). Immunohistokimyasal boyamanın virüs izolasyonuna göre daha hızlı ve ekonomik bir yöntem olduğu bildirilmiştir (27-29). Baszler ve ark. (30) ise immunohistokimyasal yöntemin, gaita ve taze dokuda virüs izolasyonuna göre teşhiste daha güvenilir bir yöntem olduğunu iddia etmişlerdir (30). Immunohistokimyasal yöntem daha çok persiste hayvanları belirlemek için deri biyopsisi örneklerinde kullanılmıştır (24,26,27-29). Fakat bu yöntemin persiste hayvanları belirlemede yeterli olamayacağı da düşünülmektedir. Çünkü Libler-Tenorio, Ridpath ve Neill (23) yaptıkları bir çalışmada BVDV inoküle edilmiş hayvanlarda etkeni lenfoid dokularda ve bağırsaklarda tespit ederken, deride etkeni tespit edememişlerdir (31).

İmunohistokimyasal olarak yapılan önceki çalışmalarda BVDV viral antijenlerinin bağırsağın mukozasında, kan damarlarında, bağ dokusunda, histiyositlerinde, payer plaklarında, interfolliküler alanlarında, myositlerinde olduğu bildirilmiştir (7,31-

34). Wilhemsen ve ark. (32) deneysel olarak sağlıklı yetişkin 8 sığıra BVDV'yi vererek 5-12 gün arasında nekropsilerini yapmışlar immunohistokimyasal olarak antijenlerin dağılımını incelemişlerdir. Immunohistokimyasal olarak ise etkene akciğer lenf yumruları gibi organlara ilave olarak ileum ve kolondaki mononükleer hücrelerde intrasitoplazmik olarak olarak bulunduğunu tespit etmişlerdir (32). Ellis ve ark. (34) ise 35 günlük buzağılara BVDV vererek 10. günden sonra nekropsilerin yapmışlar ve bağırsaklardaki kan damarlarında ve peyer plaklarında BVDV antijenlerine rastlamışlardır (34). Liebler-Tenorio ve ark. (31) yaşları 3 hafta ile 3 ay arasında değişen 13 buzağıya BVDV inoküle ederek deneysel bir çalışma yapmışlardır. Persiste hayvanlarda makroskopik olarak herhangi bir bulguya rastlamazken, BVDV 'u immunohistokimyasal olarak bağırsağın ileum kısmındaki peyer plaklarında, submukozada, kan damarlarının duvarlarında, interfolliküler alanlarda, myositlerde, lamina proparia'daki mononükleer hücrelerde ve epitel hücrelerinde tespit etmişlerdir (32). Sunulan çalışmada da benzer şekilde BVDV immunpozitif olarak tespit edilen örneklerde viral antijenlere 27 örneğin tamamında lamina propria'da, 21'inde peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde, 19'unda lamina epitelyalis' te, 14'ünde ise kript epitel hücrelerinde rastlanmıştır. Viral antijenlerin kan damarlarının duvarlarında, interfolliküler alanlarda tespit edilememesi ise önceki yapılmış olan çalışmaların daha çok deneysel, kısa süreli ve viral antijen miktarı ile ilişkilendirilmiştir.

Sonuç olarak; BVDV'nin immunohistokimyasal olarak teşhisine yönelik Erzurum ve yöresinde epidemiyolojik bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışma ile Erzurum ve yöresinde sığırlarda %27 oranında BVDV immunpozitifliği bulunmuş ve sığır yetiştiriciliği açısından verim kaybı, döl veriminde kayıplara neden olabileceğinden dolayı önemli bir etken olduğu belirlenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Lindenbach BD., Rice C., 2001. Flaviviridae: the viruses and their replication. *Fields Virol*, 1, 991-1041.
2. Olafson P., MacCallum A., Fox FH., 1946. An apparently new transmissible disease of cattle. *The Cornell Veter*, 36, 205-213.
3. Moennig V., Houe H., Lindberg A., 2005. BVD control in Europe: current status and perspectives. *Anim Health Res Rev*, 6, 63-74.
4. Straub OC., 1975. Infectious bovine rhinotracheitis virus. History and recent developments. *Dev Biol Stand*, 28, 530-533.
5. Ohmann HB., 1983. Pathogenesis of bovine viral diarrhoea-mucosal disease: distribution and significance of BVDV antigen in diseased calves. *Res Vet Sci*, 34, 5-10.
6. Harkness J., Sands J., Richards M., 1978. Serological studies of mucosal disease virus in England and Wales. *Res Vet Sci*, 24, 98-103.
7. Odeon AC., Kelling CL., Marshall DJ., Estela ES., Dubovi EJ., Donis RO., 1999. Experimental infection of calves with bovine viral diarrhoea virus genotype II (NY-93). *J Vet Diagn Invest*, 11, 221-228.
8. Drager C., Schröder C., König P., Tegtmeyer B., Beer M., Blome S., 2016. Efficacy of Suvaxyn CSF Marker (CP7_E2alf) in the presence of pre-existing antibodies against Bovine viral diarrhoea virus type 1. *Vaccine*, 34, 4666-4671.
9. Zhang X., Diraviyam T., Li X., Yao B., Antonysamy M., 2016. Preparation of chicken IgY against recombinant E2 protein of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and development of ELISA and ICA for BVDV detection. *Biosci Biotechnol Biochem*, 80, 2467-2472.
10. Villalba M., Fredericksen F., Otth C., Olavarria V. 2016. Transcriptomic analysis of responses to cytopathic bovine viral diarrhoea virus-1 (BVDV-1) infection in MDBK cells. *Mol Immunol*, 71, 192-202.
11. Hertig C., Pauli U., Zanoni R., Peterhans E., 1991. Detection of bovine viral diarrhoea (BVD) virus

- using the polymerase chain reaction. *Vet Microbiol*, 26, 65-76.
12. Araujo Pereira D., Brigolin Peron J., de Souza Almeida HM., Gasparini Baraldi T., Honorato Gatto IR., Coelho Kasmanas T., Pituco EM., Montassier HJ., de Oliveira LG3. 2018. Experimental inoculation of gilts with bovine viral diarrhoea virus 2 (BVDV-2) does not induce transplacental infection. *Vet Microbiol*, 225, 25-30.
 13. Hyera J., Liess B., Frey H., 1987. A direct neutralizing peroxidase-linked antibody assay for detection and titration of antibodies to bovine viral diarrhoea virus. *Zentralbl Veterinarmed B*, 34, 227-239.
 14. Karaoglu T., 1998. Sahadanizole edilen bovine viral diarrhoea virus (BVDV) izolatlarının immunplak test ile biyotipik tayini. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 323-332.
 15. Çabalar M., Karaoğlu M., 1999. Sığırlarda BVD virus enfeksiyonuna karşı antikor varlığının araştırılmasında notralizasyon immunperoksidaz (NPLA) ve serum notralizasyon (SN) testlerinin karşılaştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 46, 249-255.
 16. Yıldırım Y., Burgu İ., 2005. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesindeki sığırlarda mavdil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 52, 113-117.
 17. Tan MT., Karaoğlu MT., Erol N., Yıldırım Y., 2006. Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydın province. *Turkish J Vet Anim Sci*, 30, 299-304.
 18. Yazıcı Z., Okur G., Albayrak H., 2007. Serological profile of some viral infections in unvaccinated cattle in Turkey. *Med Weter*, 63, 187-189.
 19. Nural E., Sibel G., Abuzer A., 2014. Afyonkarahisar İlinde bovine viral diarrhoea virus enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Kocatepe Vet J*, 7, 17-21.
 20. Şişman E., Akkan HA., 2011. Muğla İli ve çevresinde sığırcılık işletmelerinde bovine viral diyare virus (BVDV) enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi*.
 21. Kayacan G., Yapıcı O., 2008. Konya ve çevresinde bulunan süt sığırcılığı işletmelerindeki hayvanlara ait kan ve süt serumlarında bovine viral diarrhoea virus (BVDV)'una karşı oluşan antikorların elisa ile araştırılması. *Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi*.
 22. Strong R., La Rocca SA., Paton D., Bensaude E., Sandvik T., Davis L., Turner J., Drew T., Raue R., Vangeel I., Steinbach F. 2015. Viral dose and immunosuppression modulate the progression of acute BVDV-1 infection in calves: Evidence of long term persistence after intra-nasal infection. *PLoS One*, 8, e0124689.
 23. Ridpath JF., Bayles DO., Neill JD., Falkenberg SM., Bauermann FV., Holler L., Braun LJ., Young DB., Kane SE., Chase CC., 2015. Comparison of the breadth and complexity of bovine viral diarrhoea (BVDV) populations circulating in 34 persistently infected cattle generated in one outbreak. *Virology*, 485, 297-304.
 24. Brodersen B., White A., Smith D., 1998. In Immunohistochemical test on skin biopsies as a method for detection of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus, *American Association of Bovine Practitioners. Conference (USA)*,
 25. Thür B., Zlinszky K., Ehrensperger F., 1996. Immunohistochemical detection of bovine viral diarrhoea virus in skin biopsies: a reliable and fast diagnostic tool. *Zentralbl Veterinarmed B*, 43, 163-166.
 26. Bianchi MV., Konradt G., de Souza SO., Bassuino DM., Silveira S., Mosena AC., Canal CW., Pavarini SP., Driemeier D. 2017. Natural outbreak of BVDV-1d-induced mucosal disease lacking intestinal lesions. *Vet Pathol*, 54, 242-248.
 27. Hilbe M., Stalder H., Peterhans E., Haessig M., Nussbaumer M., Egli C., Schelp C., Zlinszky K., Ehrensperger F., 2007. Comparison of five diagnostic methods for detecting bovine viral

- diarrhea virus infection in calves. *J Vet Diagn Invest*, 19, 28-34.
28. Houe H., Lindberg A., Moennig V., 2006. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *J Vet Diagn Invest*, 18, 427-436.
 29. Luzzago C., Frigerio M., Tolari F., Mazzei M., Salvadori C., Del Piero F., Arispici M., 2006. Indirect immunohistochemistry on skin biopsy for the detection of persistently infected cattle with bovine viral diarrhoea virus in Italian dairy herds. *New Microbiol*, 29, 127-131.
 30. Baszler T., Evermann J., Kaylor P., Byington T., Dilbeck P., 1995. Diagnosis of naturally occurring bovine viral diarrhoea virus infections in ruminants using monoclonal antibody-based immunohistochemistry. *Vet Pathol*, 32, 609-618.
 31. Liebler-Tenorio EM., Ridpath JF., Neill JD., 2004. Distribution of viral antigen and tissue lesions in persistent and acute infection with the homologous strain of noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *J Vet Diagn Invest*, 16, 388-396.
 32. Wilhelmsen C., Bolin S., Ridpath J., Cheville N., Kluge J., 1990. Experimental primary postnatal bovine viral diarrhoea viral infections in six-month-old calves. *Vet Pathol*, 27, 235-243.
 33. Shin T., Acland H., 2001. Tissue distribution of bovine viral diarrhoea virus antigens in persistently infected cattle. *J Vet Sci*, 2, 81-84.
 34. Ellis JA., West KH., Cortese VS., Myers SL., Carman S., Martin KM., Haines DM., 1998. Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhoea virus-type II. *Can J Vet Res*, 62, 161-169.



Karatavukta (*Turdus merula*) Viscerocranium'un Makro–Anatomik Olarak İncelenmesi*

Caner BAYRAM^{1a}, Derviş ÖZDEMİR^{1b}✉

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0003-1709-6638^a, 0000-0002-6038-0485^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
15.02.2019	12.05.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Bayram C, Özdemir D: Karatavukta (*Turdus merula*) Viscerocranium'un Makro–Anatomik Olarak İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 176-184, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.527387

Öz: Bu çalışmada, karatavuk (*Turdus merula*) kuşunda viscerocranium kemiklerinin makro- anatomik olarak incelenmesi amaçlandı. Araştırmada cinsiyet ayrımına bakılmaksızın yetişkin; yedi adet erkek ile beş adet dişi karatavuk kuşunun kafatası kemikleri masere edilerek makro- anatomik olarak incelendi. Splanchnocranium kemiklerini; os lacrimale, os nasale, os incisivum, os maxilla, os zygomaticum, os palatinum, os vomer, os quadratum, mandibula ve os hyoideum oluşturmaktaydı. Os ethmoidale'nin orbita'nın baskısıyla splanchnocranium kısmına dâhil olduğu gözlemlendi. Os lacrimale'nin oval ve küt bir şekilde sonlandığı belirlendi. Os nasale'nin, cavum nasi'nin dorsal ve lateral sınırlarını belirlediği ayrıca, os intermaxillare ile kaynaşarak burun deliklerinin oluşumuna katıldıkları görüldü. Os maxilla'nın proc. palatinus'ları aracılığıyla damağın şekillenmesine katkı sağladığı belirlendi. Os zygomaticum'un os jugale ve os quadratojugale'nin kaynaşmasıyla oluşan ince, uzun, çubuk şeklinde bir kemik olduğu, os vomer'in ise nares posterior'da os palatinum kemikleri arasında yer aldığı görüldü. Mandibula'nın alt çenenin iskeletini şekillendirdiği ve bu kemiğin caudal'den cranial'e doğru; os angulare, os articulare, os supraangulare, os complementare, os oparculare ve os dentale kemiklerinin birleşmesinden oluştuğu görüldü. Os hyoideum'un gövdesini oluşturan basihyoideum'un çubuk şeklinde olduğu gözlemlendi. Sonuç olarak; bu çalışmada elde edilen verilerin bu alanda bilgi eksikliğine katkı sağlayacağı ve sistematik alanda çalışan araştırmacılar için de taksonomide faydalanacakları bir kaynak olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kafatası, Karatavuk, Ossa cranii, *Turdus merula*, Viscerocranium.

Macro- Anatomical Examination of the Viscerocranium in the Blackbird (*Turdus merula*)

Abstract: In this study, it was aimed to investigate viscerocranium bones in black-bird (*Turdus merula*) bird macro-anatomically. In this research, regardless of gender, skulls of seven male and five female adult blackbirds were examined macro-anatomically by maceration. Splanchnocranium bones constituted of lacrimal, nasal, incisive, maxilla, zygomatic, palatine, vomer, quadratum, mandible and hyoid bones. Ethmoid bone was included in the splanchnocranium part by the pressure of orbita. Lacrimal bone was found to be oval and blunt ended. It was seen that nasal bone determines dorsal and lateral borders of the cavum nasi and also nostrils are formed at the end of fusion of extensions constituted together with intermaxillae and nasal bone. It was determined that proc. palatinus of maxilla bone contribute to the shape of palate. Zygomatic bone was also a thin, long, rod-shaped bone formed by the fusion of os jugale and os quadratojugale, while os vomer was present as a nucleus in this region. It was seen that the mandibula shaped the skeleton of the lower jaw and this bone is formed by incorporating os angulare, os articulare, os supraangulare, os complementare, os oparculare and os dentale bones. It was observed that the basihyoideum forming the body of the os hyoid bone was rod shaped. It was concluded that data obtained in this study would contribute to the lack of information in this area and it might be a source for systematic field researchers to use in taxonomy.

Keywords: Blackbird, Ossa cranii, Skull, *Turdus merula*, Viscerocranium.

✉ Derviş Özdemir

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

e-posta: dozdemir@atauni.edu.tr

*Caner BAYRAM'ın yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Karatavuk (*Turdus merula*) kuşunun da içerisinde yer aldığı, sayısı bakımından en kalabalık takımını oluşturan *Passeriformes* (*Passeres* = Ötücü Kuşlar), yaşamakta olan kuşların %60'ını içerir (1-5). Fosil ve nesli tükenenlerde içinde olmak üzere tüm tespit edilmiş kuşların ise %50'den fazlasını oluşturur (2). Bu takıma ait bulunmuş en eski fosil; Amerika'da Miyosen tabakalarında saptanan *Paleospiza* türüdür (1,2).

Kuşlarda kafatası tipleri; palaeognath, schizognath, desmognath, aegithognath olmak üzere dört çeşittir ve bu tiplerin sadece bir tanesinin bir takımda görülmesinden dolayı taksonomik çalışmalarda da kullanılmaktadır (1).

Bazı kuş türlerinin (6-16), viscerocranium kemikleri üzerinde gerek morfolojik gerekse morfometrik birçok çalışma yapılmıştır. Literatür taramasında karatavukta viscerocranium kemikleri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu araştırmada, taksonomi alanındaki bilgi birikimine katkı sağlaması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada, Giresun İli'nin Dereli İlçe'sine bağlı Meşeliyatak Köyü'ndeki arazide çeşitli sebeplerden dolayı ölü olarak bulunan yetişkin karatavuk (*Turdus merula*) kuşları (yedi tane erkek, beş tane de dişi) kullanıldı. Yaklaşık 5- 5.2 cm uzunluğa sahip olan cranium'ları çalışmada cinsiyet ayrımı gözetmeksizin incelendi. Kafatası kemiklerinin maserasyonları literatürde (17) belirtilen yöntemlere göre yapıldı. 500 ml'lik beher kabı içerisine 50 ml soda (NaHCO_3) ilave edilerek geri kalan kısmı su ile tamamlandı ve kaynamaya bırakıldı. Kemiklerin, tüy ve etlerden ayrılmasını kolaylaştıran ısı işlem, kemiklerin zarar görmemesi için 2 saat uygulandı. Bu süreçte sık sık kontroller yapılarak ısı işlemi tamamlandıktan sonra, suyu süzülür ve daha sonrasında dikkatli bir diseksiyon çalışmasıyla oldukça hassas olan cranium kemiklerine zarar verilmeden; bistüri, dişli pens ve kancalı iğne gibi aletler yardımı ile temizlendi.

Temizlenen cranium'lar daha sonra maserasyonu tamamlanmak üzere; % 10 NaHCO_3 ile aynı oranda sabun içeren içi su dolu beher kabı içerisine konularak 3 gün süre ile bekletildikten sonra çıkarılıp güneşte tamamen kurularak çalışma için hazır hale getirildi.

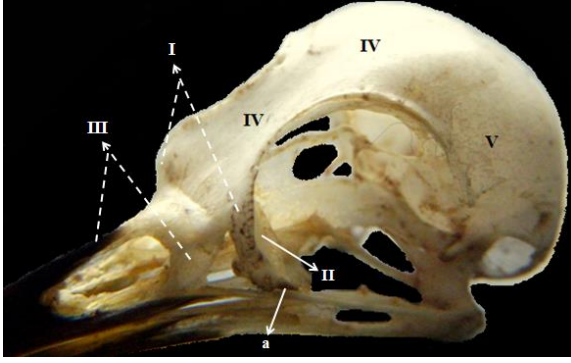
Makro- anatomik olarak incelenen cranium kemiklerinin daha sonra 50 mm'lik klasik büyüteç yardımıyla çeşitli açılardan fotoğrafları çekildi. Terminolojik ifadelerin yazılımında Nomina Anatomica Avium (NAA) esas alındı (18). Çalışma için gerekli izin Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul'undan alındı (Tarih: 27.04.2011, Sayı: 2.1/4).

BULGULAR

Viscerocranium'u; os maxillare, os premaxillare, os zygomaticum, os lacrimale, os nasale, os palatinum, os pterygoideum, os vomer, os quadratum, mandibulae ve os hyoideum oluşturmaktaydı. Ayrıca, memeli hayvanlarda neurocranium kısmında bulunan os ethmoidale'nin, orbita'nın baskısıyla viscerocranium bölümü içerisinde yer aldığı gözlemlendi. Splanchnocranium'u oluşturan kemikler içerisinde os premaxillare ile mandibulae'nin daha uzun ve kuvvetli bir yapıda oldukları belirlendi. Bu bölümü oluşturan kemikler kendi aralarında hareketli eklem oluşturmalarının yanı sıra, neurocranium kısmı ile bağlantılı oldukları kısımlarda da hareketli eklemler şekillendirdikleri görüldü. Ayrıca çene oluşumunda önemli rol alan bu bölümün memelilerden farklı olarak; tüm kuş türlerinde olduğu gibi üzerlerinde diş bulundurmadıkları gözlemlendi.

Os lacrimale

Os ethmoidale'nin lateral kısmında yer alan os lacrimale'nin, orbita'nın nasal ve ventral parçalarının oluşumunda rol aldığı belirlendi. Karatavuk kuşunda bu kemiğin belirgin bir çıkıntısının olmadığı, oval ve küt bir şekilde sonlandığı tespit edildi (Şekil 1).

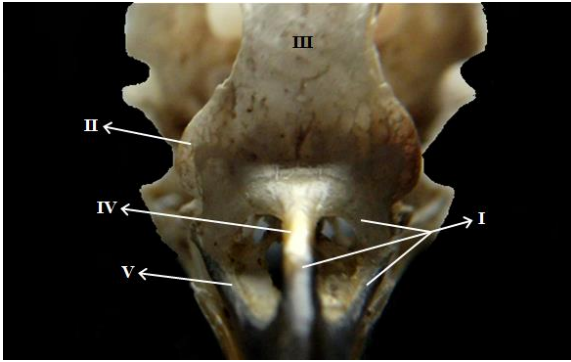


Şekil 1. Karataavukta os lacrimale'nin lateral'den görünümü.

Figure 1. Lateral view of os lacrimale in blackbird. I. Os lacrimale, II. Os ethmoidale, III. Os nasale, IV. Os frontale, V. Os parietale a. Processus ethmoidale.

Os nasale

Os nasale; cavum nasi'nin dorsal ve lateral kesimlerinin geniş bir kısmını şekillendirmektedir. Burun deliklerinin; üst kenarının proc. intermaxillaris ile oluştuğu; ağızdan uzak olan köşe ve taban kısmının ise proc. maxillaris ile bağlantılı olduğu saptandı (Şekil 2).



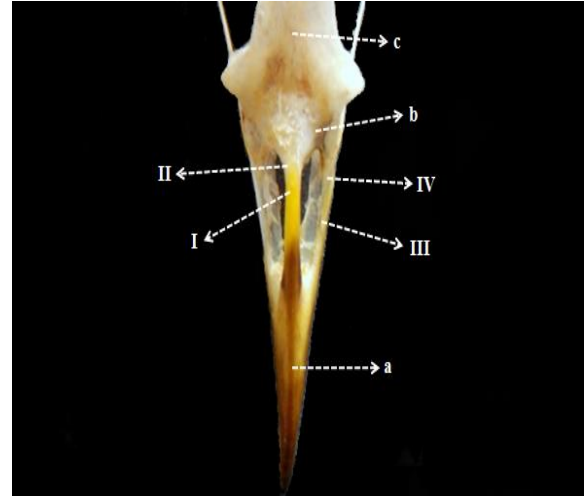
Şekil 2. Karataavukta os nasale'nin cranial'den görünümü.

Figure 2. Cranial view of os nasale in blackbird. I. Os nasale, II. Os lacrimale, III. Os frontale, IV. Proc. intermaxillaris, V. Proc. maxillaris.

Os premaxillare (Os incisivum – os intermaxillare)

Üst gaganın oluşumunda önemli bir role sahip olan os premaxillare'nin; proc. palatinus, proc. maxillaris ve proc. frontalis adı verilen üç önemli çıkıntısının olduğu belirlendi. Bunlardan proc. maxillaris'in gaganın kenarlarına tampon vazifesi

gördüğü ve arka ucuyla os maxillare ile birleştiği; proc. palatinus'un, palatum durum'un şekillenmesine büyük katkı sağladığı; proc. frontalis'lerin ise median düzlemde kaynaşarak caudal'inde bulunan os frontale'ye uzanarak gaganın kaidesinin temelini teşkil ettikleri ve esneklik kazandırdıkları belirlendi. Proc. palatinus'ların, karataavuk kuşunda dar bir yapıda oldukları ve neticesinde aralarında geniş bir yarık meydana getirdikleri görüldü. Ventral'den os intermaxillare ve os nasale'nin proc. maxillaris'i ile dorsalden os intermaxillare'nin proc. frontalis'i ve os nasale'nin proc. intermaxillaris'inin kaynaşarak nares'i şekillendirdikleri gözlemlendi (Şekil 3).



Şekil 3. Karataavukta os intermaxillare'nin dorsal'den görünümü.

Figure 3. Dorsal view of os intermaxillare in blackbird. a. Os intermaxillare, b. Os nasale, c. Os frontale. I. Os intermaxillare'nin proc. frontalis'i, II. Os nasale'nin proc. intermaxillaris'i, III. Os intermaxillare'nin proc. maxillaris'i, IV. Os nasale'nin proc. maxillaris'i.

Os maxilla

Os maxilla'nın hem üst gaganın caudo-lateral bölgesini oluşturduğu hem de medial'deki proc. palatinus'ları ile damağın şekillenmesine katkıda bulunduğu saptandı. Bunun yanı sıra; os intermaxillare, os zygomaticum, os palatinum ve os nasale'yle de temas halinde oldukları gözlemlendi (Şekil 4).



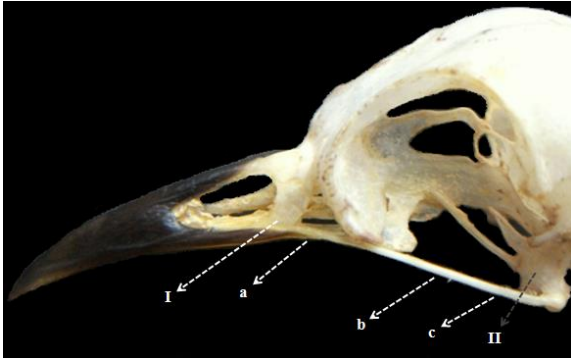
Şekil 4. Karatavukta os maxilla'nın lateral'den görünümü.

Figure 4. Lateral view of maxilla in blackbird.

a. Os maxilla, b. Os intermaxillare, c. Os nasale, d. Os frontale.

Os zygomaticum

Üst gaganın arka lateral kısmında; caudal'den cranial'e doğru os jugale ve os quadratojugale ve os maxilla'nın proc. jugalis'i ile birleşerek, lateral'de karşılıklı olarak ince, uzun ve çubuk şeklinde bir kemik olarak seyrettiği ve caudal'inde, os quadratum ile eklemleştirdiği tespit edildi (Şekil 5).



Şekil 5. Karatavukta os zygomaticum'un lateral'den görünümü.

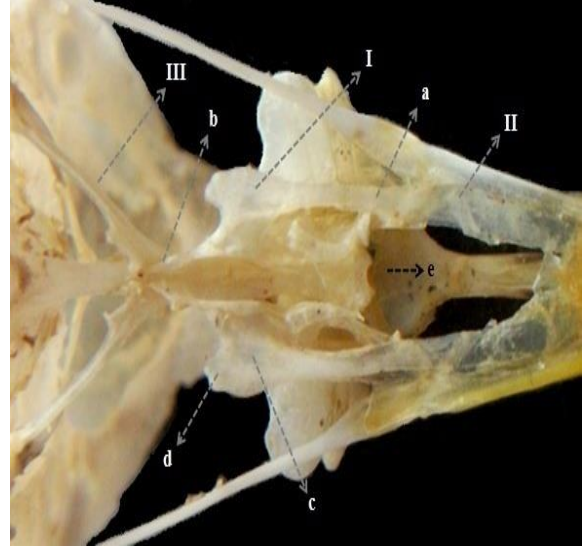
Figure 5. Lateral view of os zygomaticum in blackbird.

a. Proc. jugalis, b. Os jugale, c. Os quadratojugale, I. Os maxillare, II. Os quadratum.

Os palatinum

Os palatinum'un; üst gaganın ortasında; os pterygoideum ile os maxillare arasında medial'e dönük konkav oluşturarak; yan yana paralel bir şekilde uzanan çubuk şeklinde kemik bir plaka olarak yer aldığı ve aralarında yarık şeklinde oluşturdukları boşluk ile nares posterior'u şekillendirdikleri tespit

edildi. Ayrıca bu kemiklerin; rostral kısmında, os maxillare ile caudal kısmında ise os pterygoideum ile kaynaştıkları görüldü. Os palatinum'un medial'e dönük konkav yapısı sonucu; fossa ventralis'in olduğu, paralel uzanan her iki kemik plakasının caudo-lateral kısımlarının simetrik bir şekilde ve belirli bir açıda yer aldıkları görüldü (Şekil 6).



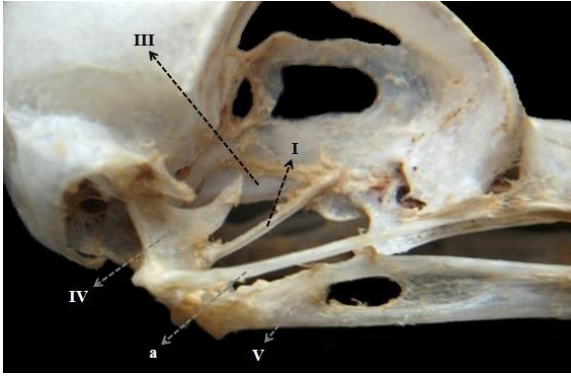
Şekil 6. Karatavukta os palatinum'un ventral'den görünümü.

Figure 6. Ventral view of os palatinum in blackbird.

I. Os palatinum, II. Os maxillare, III. Os pterygoideum
a. Os palatinum'un proc. maxillaris'i, b. Os palatinum'un proc. pterygoideus'u, c. Os palatinum'un fossa ventralis'i, d. Os palatinum'un angulus caudolateralis'i, e. Nares posterior.

Os pterygoideum

Os pterygoideum'un; üst çenenin median düzleminden caudal köşelere doğru çapraz olarak uzanmış karşılıklı simetrik bir şekilde yer alan çubuk şeklinde kısa ve dayanıklı bir yapıya sahip 'Y' harfi şeklinde yer alan köprü vazifesinde bir kemik olduğu tespit edildi. Bu kemiğin rostral'de birleşen çapraz uçları median'da os palatinum ile buranın üstünde ise os sphenoidale ile eklemleştikleri görüldü. Bununla birlikte; caudal köşelere doğru median'dan çapraz olarak uzanan uçları üst çenenin lateral sınırında, os quadratojugale'nin medial'inde aynı zamanda mandibula'nın caudal'inin dorsal'inde; os quadratum ile eklemleştikleri saptandı (Şekil 7).



Şekil 7. Karatavukta os pterygoideum'un lateral'den görünümü.

Figure 7. Lateral view of os pterygoideum in blackbird.

I. Os pterygoideum, III. Os sphenoidale, IV. Os quadratum, V. Mandibulae
a. Os quadratojugale.

Os vomer

Os vomer'in, nares posterior'da, os palatinum kemikleri arasında medial olarak çekirdek şeklinde, küçük ve rudimenter yapıda yer aldıkları görüldü. Bu kemiğin; caudal'de os sphenoidale, rostral'de ise os maxillare'yle kaynaştıkları tespit edildi (Şekil 8).



Şekil 8. Karatavukta os vomer'in ventral'den görünümü.

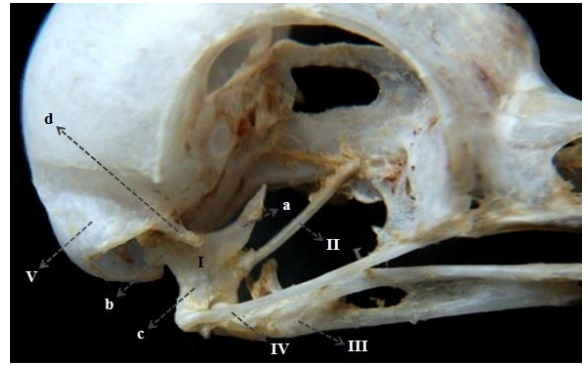
Figure 8. Ventral view of os vomer in blackbird.

I. Os vomer.

Os quadratum

Os quadratum'un, kafatasının caudo- lateral kısmında dört köşeli ve kareye benzer şekilde os temporale ile mandibula arasında köprü vazifesi görerek bağlantı sağlayan bir konumda olduğu görüldü. Üzerinde orbital bölgeye dönük proc. orbitalis, squama temporale'nin eklem oluşu ve

oticum eklem uzantısıyla kaynaşan proc. oticus; mandibula ve os quadratojugale ile de birleşmede rol oynayan proc. mandibularis adı verilen üç uzantıya sahip olduğu belirlendi. Ayrıca medial'inde; os pterygoideum ile kaynaştıkları görüldü. Lateral kısmında; squama temporale'den uzanan proc. zygomaticum'un varlığı saptandı. Ventral bölümünde ise; condylus lateralis, condylus medialis ve bunların arasında sulcus interconylaris ile arkasındaki condylus caudalis adı verilen çıkıntılar tespit edildi (Şekil 9).



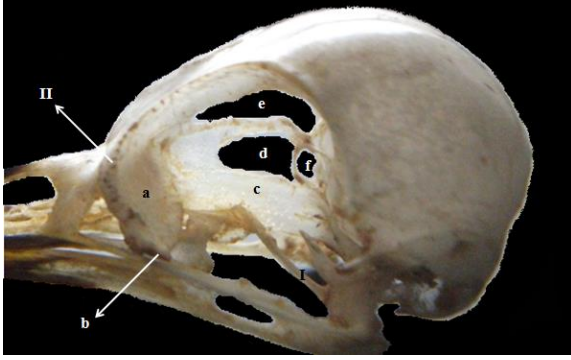
Şekil 9. Karatavukta os quadratum'un lateral'den görünümü.

Figure 9. Lateral view of os quadratum in blackbird.

I. Os quadratum, II. Os pterygoideum, III. Mandibula, IV. Os quadratojugale, V. Squama temporalis
a. Proc. orbitalis, b. Proc. oticus, c. Proc. mandibularis, d. Proc. zygomaticus.

Os ethmoidale

Os ethmoidale'nin, orbita'nın genişlemiş yapısı sonucu öne doğru yer aldığından neurocranium'un kapsamı dışında kaldığı belirlendi. Os lacrimale'nin medial tarafındaki nasal ve frontal kemiklerin ventral tabanında horizontal olarak bulunan os ethmoidale; lamina cribriformis kısmı ile septum interorbitale'nin oluşumunda rol alan ve buranın cranial kısmında vertikal olarak septum nasi ile eklem yapan lamina perpendicularis'den oluşmaktaydı. Ayrıca ventral bölümünün lateral kısmında; körelmiş ve oval şekilli proc. ethmoidalis mevcuttu. Septum interorbitale'nin, dorsal'inde fonticuli interorbitalis, fonticuli interorbitalis'in caudal kısmının ventral'inde büyük bir şekilde for. opticum'un yer alıyordu (Şekil 10).



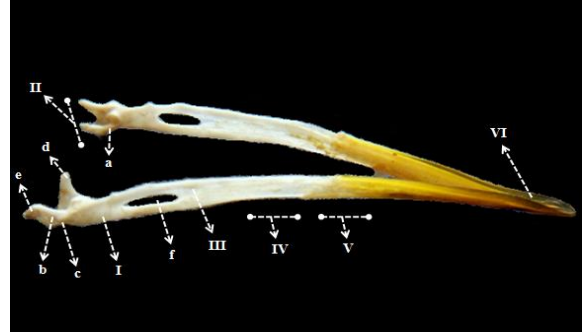
Şekil 10. Karatavukta os ethmoidale'nin lateral'den görünümü.

Figure 10. Lateral view of os ethmoidale in blackbird. I. Os pterygoideum, II. Os lacrimale, a. Os ethmoidale, b. Processus ethmoidales, c. Septum interorbitale, d. Fonticuli interorbitales, e. Fonticuli orbitocranialis, f. Foramen opticum.

Mandibula

Mandibula'yı meydana getiren, sağ ve sol lateral kollarının önde tekli kemik olan os dentale ile kaynaşarak, alt çenenin iskeletini şekillendirdikleri görüldü. Mandibula'yı şekillendiren bu kolların her birinin erken dönemde kaynaşan ve sınırları net olarak saptanamayan ikincil kemiklerden oluşması sebebiyle; tek bir kemik gibi görünmekteydi. Bu kemikler; önden arkaya doğru; os dentale os oparculare, os complementare, os supraangulare, os articulare ve os angulare'den meydana gelmekteydi. Bu oluşumdaki kemiklerden; os angulare'nin, biri medial'e yönelik olan proc. angularis internus, diğeri ise caudal tarafta ventral'e dönük konveks yapıda olan proc. angularis posterior adı verilen iki çıkıntıya sahip oldukları gözlemlendi. Boyun bölgesine doğru yönelen os articulare'lerin; çene eklemine oluşumunda eklem yüzü oluşturdukları ve geriye yönelik proc. articularis'e sahip oldukları belirlendi. Ayrıca çene eklemine oluşumunda rol alan os quadratum'un ventral'inde mandibula'ya dönük yüzeyinde yer alan condylus'ların; mandibula'nın caudal'inde üst çeneye dönük yüzeyinde yer alan; medial'deki cotyla medialis ile lateral'deki cotyla lateralis'leri aracılığıyla da condylus'ların yerleşmeleri için eklem yüzeyi oluşturdukları tespit edildi. Bununla birlikte mandibula'nın caudal bölümünde içe yönelik proc. mandibularis medialis ile dışa dönük proc. mandibularis lateralis'in varlığı

saptandı. Os supraangulare yüzeyinde ise; kas kabartısı ile kas çıkıntısının olduğu, ayrıca iç yüzeyinde ise canalis mandibularis'in giriş deliği olan for. mandibula'nın yer aldığı tespit edildi (Şekil 11).

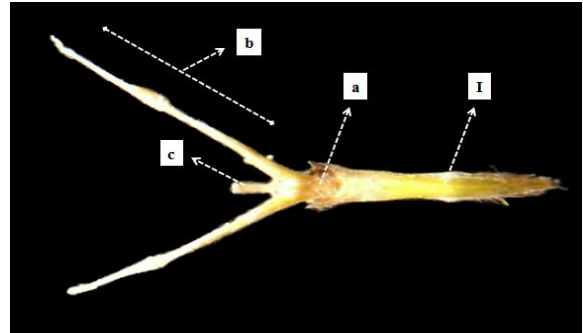


Şekil 11. Karatavukta mandibulae'nin lateral'den görünümü.

Figure 11. Lateral view of mandibulae in blackbird. I. Os angulare, II. Os articulare, III. Os supraangulare, IV. Os complementare, V. Os oparculare, VI. Os dentale a. Cotyla medialis, b. Cotyla lateralis, c. Proc. mandibularis lateralis, d. Proc. mandibularis medialis, e. Proc. articularis, f. Foramen mandibula.

Os hyoideum

Os hyoideum'un, gövdesinin merkezini oluşturan basihyoideum ile buna bağlı iki lateral kol olan ramus hyoideum ve caudal kısma doğru uzayan urohyle adı verilen küçük bir çıkıntıdan meydana geldikleri, ayrıca rostral kısmında ise; os entoglossum'un gövde kısmına eklenmiş olduğu belirlendi. Bu kısımlardan basihyoideum'un çubuk şeklinde; os entoglossum'un ise, kürek şekline benzer bir yapıda oldukları görüldü (Şekil 12).



Şekil 12. Karatavukta os hyoideum'un ventral'den görünümü.

Figure 12. Ventral view of os hyoideum in blackbird. a. Basihyoideum, b. Ramus hyoideum, c. Urohyle I. Os entoglossum.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kuşların baş iskeleti omurgalı canlılar grubu içerisinde en fazla özellik gösterendir (19). Kanatlılarda; palaeognath, schizognath, desmognath ve aegithognath olmak üzere dört çeşit kafatası tipi olduğu bildirilmektedir (1). Karataavuk kuşunda kafatası; os vomer, enine gelişerek boyundan daha büyük ve son kısımlarına doğru kaynaşmış yapıda olduğundan; aegithognath kafatası tipine sahip oldukları tespit edildi.

Literatürde (19-21) viscerocranium'un; os lacrimale, os nasale, os premaxillare, os maxillare, os zygomaticum, os palatinum, os pterygoideum, os vomer, os quadratum, mandibulae ve os hyoideum'dan oluştuğu, ayrıca os ethmoidale'nin; orbita'nın baskısıyla kafatasının ön kısmındaki nasal bölgeye kaydığından neurocranium sınırları dışına çıktığı ve bu kemiğinde splanchnocranium bölümü içerisinde yer aldığı bulguları karataavuk kuşunda da gözlemlendi.

Literatürde (19-21); os intermaxillare ile mandibulae'nin diğer kemiklere göre daha uzun ve güçlü olduğu bildiri mi, çalışmanın bulguları ile uyumluydu. Eklemeleşme yapıları splanchnocranium'u oluşturan kemiklerin kendi aralarındaki yaptıkları hareketli eklemlerin yanı sıra, neurocranium kemiklerinin de hareketli eklem şekillendirdikleri bilgisi (19-21) çalışmada da tespit edildi. Splanchnocranium'un alt ve üst çenelerin şekillenmesinde rol aldığı ve dişlerin bulunmadığı belirtilmiştir (20,21). Karataavuk kuşunda da dişlerin bulunmadığı görüldü.

Os lacrimale'nin, os ethmoidale'nin lateral'inde yer aldığı ve orbita'nın nasal ve ventral kenarlarını şekillendirdikleri bildirimleri (6,7,19-21), bu çalışmanın bulguları ile benzer olduğu belirlendi. Os lacrimale'nin; tavuk, güvercin ve bıldırcın gibi kuşlarda küçük ve orbital kenarla birleşmiş şekilde, çamurcunda oldukça belirgin, ördek ve kazda yassı ve büyük yapıda oldukları bildirilmektedir (6,7,19-21). Söz konusu kemiğin karataavuk kuşunda; tavuk, güvercin ve bıldırcında görüldüğü gibi olduğu, bunun yanı sıra oval ve küt bir şekilde sonlandığı tespit

edildi. Literatürde (6,19-21), ördek, kaz ve çamurcun gibi kuşlarda ayrıca caudal'e dönük proc. lacrimalis'lerinin bulunduğu ifade edilmekte ve bu çıkıntının aynı zamanda proc. orbitalis'e çok yakın olduğu ve orbita'yı çevreleyerek, orbita kısmında iç halka meydana getirdikleri belirtilmektedir. Karataavuk kuşunda ise; tavuk, güvercin ve bıldırcında olduğu gibi proc. lacrimalis'in gelişmemiş olduğu ve bu iç halkaları oluşturmadıkları belirlendi.

Os nasale'nin, cavum nasi'nin dorsal ve lateral sınırlarının geniş bir kısmını oluşturduğu bulguları (6,19), çalışma materyalinde de aynı şekilde olduğu görüldü. Kızıl şahin (*Buteo rufinus*) kuşunda gözlenen cavum nasale'nin örümcek ağı gibi doldurulmuş yapısının (9), karataavuk kuşunun cavum nasale kısmında olmadığı tespit edildi. Burun deliklerinin üst kenarının proc. intermaxillaris, ağızdan uzak olan köşe ve taban kısmının ise proc. maxillaris ile şekillendikleri bildirimlerinin (6,19-21), bu çalışma için de geçerli olduğu tespit edildi.

Kızıl şahin (*Buteo rufinus*) kuşunda (9), güçlü bir yapı kazanmış aşağı doğru kanca şeklinde kıvrılmış olan os intermaxillare'nin; karataavuk kuşunda ise aşağı doğru hafif kıvrık şekilde olduğu gözlemlendi. Os intermaxillare'nin, proc. palatinus, proc. maxillaris ve proc. frontalis adı verilen üç önemli çıkıntıya sahip olduğu bildirilmiştir (6,19). Karataavuk kuşunda da benzer bulgular gözlemlendi. Proc. palatinus'ların, çamurcun kuşunda ortada kaynaşarak damak tabakası ile aralarında uzunlamasına daralan bir yarık oluşturdukları (6,19), ördek ve kazda da ortada kaynaştıkları fakat bir damak tabakası oluşturacak şekilde aralarında oval bir delik ya da kısa yarık şeklindeki oluşumların bulunduğu ve başka boşluk bulundurmadıkları rapor edilmiştir (19). Karataavuk kuşunda ise proc. palatinus'ların tavuk ve güvercinlerdekine benzer şekilde dar bir yapıda oldukları ve bunun sonucunda aralarında geniş bir yarık şekillendirdikleri tespit edildi.

Os intermaxillare'nin dorsalde proc. frontalis'i ile os nasale'nin proc. intermaxillaris'inin, ventral kısmında ise os intermaxillare'nin proc. maxillaris'i ile os nasale'nin proc. maxillaris'inin kaynaşarak burun

deliklerini şekillendirdikleri bulguları (6,19), karatavuk kuşunda da aynı şekilde görüldü.

Os maxilla'nın üst gaganın caudo- lateral bölgesini ve medial'deki proc. palatinus'ları ile de damağın şekillenmesine katkıda buldukları bilgisinin (6,19-21), karatavuk kuşu için de geçerli olduğu gözlemlendi.

Os zygomaticum'un, üst gaganın lateral kısmında ince, uzun ve çubuk şeklinde oldukları ve caudal bölgesinde os quadratum ile eklem yaptıkları bildirimleri (6,19-21), araştırma materyalinde de aynı şekildeydi.

Os palatinum'un, üst gaganın ortasında, os pterygoideum ile os maxillare arasında medial'e dönük konkav oluşturarak, yan yana paralel bir şekilde uzanan çubuk şeklinde kemik bir plaka olarak yer aldığı ve aralarında yarık şeklindeki boşluk ile nares posterior'u şekillendirdikleri (6,19) bulgusunun, karatavuk kuşunda da aynı şekilde olduğu görüldü.

Os pterygoideum'un kısa ve yassı şekilde olan kuvvetli bir yapıya sahip oldukları ve rostral'de os palatinum, üst kısımda os sphenoidale, caudal'de ve alt kısımda os quadratum ile eklemleştikleri bildirilmektedir (6,19-21). Karatavuk kuşunda ise bu bilgilere paralel olarak; üst çenenin median düzleminden caudal köşelere doğru çapraz olarak uzanmış karşılıklı simetrik bir şekilde yer alan çubuk şeklinde kısa ve dayanıklı bir yapıya sahip 'Y' harfi şeklinde yer alan bir kemik olduğu saptandı. Ayrıca, bu kemiğin rostral'de birleşen çapraz uçları median'da os palatinum ile buranın üstünde ise os sphenoidale ile eklemleştikleri belirlendi. Bunun yanı sıra caudal köşelere doğru median'dan çapraz olarak uzanan uçları üst çenenin lateral sınırında, os quadratojugale'nin medial'inde aynı zamanda mandibula'nın caudal'inin dorsal'inde, os quadratum ile eklemleştikleri görüldü.

Os vomer'in, kaz ve ördek gibi kuşlarda ince bir kemik levha şeklinde olduğu, ayrıca kaz, ördek ve çamurcun'da nares posterior'u ikiye ayırdıkları, bunun yanı sıra bıldırcında belirgin, güvercin ve tavukta ise oldukça küçük ve rudimenter oldukları

bildirilmektedir (6,7,19-21). Karatavuk kuşunda ise güvercin ve tavukta gözlemlendiği gibi çekirdek şeklinde, küçük ve rudimenter yapıda oldukları saptandı. Ayrıca, bu kemiğin rostral'de os maxillare ile caudal'de ise os sphenoidale ile kaynaştıkları bilgisinin (6,19-21), karatavuk kuşu için de geçerli olduğu belirlendi.

Os hyoideum'un; basihyoideum, ramushyoideum, urohiale adı verilen kısımlardan oluştuğu ve ayrıca os entoglossum'un da gövde kısmında bulunduğu bilgisi (19-21), çalışmada da aynı şekilde olduğu tespit edildi. Bu kısımlardan basihyoideum'un, ördek ve kazda yassı şekilde; tavuk ve güvercin gibi evcil kuşlarda ise çubuk şeklinde (19), papağanda ise lateral kısımlardan üçgen şeklinde yassılaştırmış ve median'da sagittal bir crista halinde oldukları, buna karşılık muhabbet kuşlarında ise yanlardan basık bir crista biçiminde oldukları ifade edilmektedir (10). Karatavuk kuşunda ise basihyoideum'un, tavuk ve güvercinlerde olduğu gibi çubuk şeklinde olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak; araştırma, sistematiğe önemli bir yeri olan kuşlardaki kafatası şekillerinin karşılaştırılması alanında çalışan bilim insanlarına yararlanabilecekleri görsel materyalleri sağlamanın yanı sıra, literatürdeki karatavuk kuşu cranium'larının makro- anatomik düzeydeki bilgi eksikliklerinin giderilmesine de katkı sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Demirsoy A., 2003. Yaşamın Temel Kuralları Omurgalılar/ Amniyota (Sürüngenler, Kuşlar ve Memeliler). 5. Baskı, Meteksan Yayınevi, 199-407, Ankara.
2. Kuru M., 2006. Omurgalı Hayvanlar. 8. Baskı, Palme Yayıncılık, 425-475, Ankara.
3. Afyon A., Kaya MA., Yağız D., 2009. Genel Biyoloji, Canlılar Bilimi. 3. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, 51-52, Ankara.
4. Kızıroğlu İ., 2001. Doğal bir kuş müzesi olan

- Türkiye'deki kuş grupları, Popüler Bilim, 49-54, Ankara.
5. Ergene S., 1945. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Monografileri, Türkiye Kuşları. Kenan Matbaası, 216-246, İstanbul.
 6. Can M., Özdemir D., Özüdoğru Z., 2010. Çamurcun (*Anas crecca*) İskelet sistemi üzerinde makro- anatomik araştırmalar I. Skeleton axiale. Fırat Üniversitesi Sağlık Bil Derg, 24, 123-127.
 7. Özkan ZE., 2002. Erkek ve dişi bıldırcınlarda (*Coturnix coturnix*) cranium üzerinde makro- anatomik ve osteometrik incelemeler. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 8, 147-151.
 8. İnce NG., Demircioğlu İ., Yılmaz B., Ağyar A., Dusak A., 2018. Martılarda (*Laridae spp.*) cranium'un üç boyutlu modellenmesi. Harran Üniv Vet Fak Derg, 7, 98-101.
 9. Orhan İO., Kabak M., 2006. Facial bones of long-legged buzzard (*Buteo rufinus*). Anat Histol Embryol, 35, 211-216.
 10. Özkan ZE., 2002. Papağan (*Agapornis personata*) ve muhabbet kuşlarında (*Melopsittacus undulatus*) os hyoideum üzerinde karşılaştırmalı makro- anatomik incelemeler. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 8, 143-145.
 11. İlgün R., Özkan ZE., Akbulut Y., 2017. Tepeli pelikanların (*Pelecanus crispus*) neurocranium ve splanchnocranium kemikleri üzerinde makro- anatomik incelemeler. Van Vet J, 28, 5-10.
 12. Carlos C., Alvarenga J., Mazzochi M., 2017. Osteology of the feeding apparatus of Magnificent Frigatebird *Fregata magnificens* and Brown Booby *Sula leucogaster* (Aves: Suliformes). Pap Avulsos Zool, 57, 265-274.
 13. Süzer B., Serbest A., Arıcan İ., Yonkova P., Yılmaz B., 2018. A morphometric study on the skull of the turkeys (*Meleagris gallopavo*). Uludag Univ J Fac Vet Med, 37, 93-100.
 14. Bavdek SV., Golob Z., Janzekovic FCS., Kubale V., 2017. Skull of the grey heron (*Ardea cinerea*): Detailed investigation of the orbital region. Anat Histol Embryol., 46, 552-557.
 15. Piro A., Hospitaleche AC., 2019. Skull morphology and ontogenetic variation of the Southern Giant Petrel *Macronectes giganteus* (Aves: *Procellariiformes*). Polar Biology, 42, 27-45.
 16. Pecsics T., Laczi M., Nagy G., Csörgö T., 2017. The cranial morphometrics of the wildfowl (*Anatidae*). Ornis Hungarica, 25, 44-57.
 17. Taşbaş M., Tecirlioğlu S., 1996. Maserasyon tekniği üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Vet Fak Derg, 12, 324-330.
 18. Baumel JJ., Witmer LM., 1993. Nomina Anatomica Avium. 2nd Edition, Massachusetts, 45-132, Nuttall Ornithological Club, Harvard University.
 19. Dursun N., 2014. Evcil Kuşların Anatomisi (Hareket Sistemi), Medisan Yayınları, Ankara.
 20. Baum EV., 1964. Handbuch der Vergleichenden Anatomie der Haustiere. Çeviri: Doğuer S, Ereğin Z. Evcil Kuşların Komparativ Anatomisi, Ankara.
 21. Nickel R., Schummer A., Seiferle E., 1977. Anatomy of the Domestic Birds. Verlag Paul Parey, Berlin.



Van ilinde *Coenurus cerebralis*'in Yaygınlığı ve Coenurosis'in Teşhisinde Yardımcı Bir Parametre Olarak Enolaz (NSE) Enziminin Önemi*

Kamile BİÇEK^{1a}, Ayşe KARAKUŞ^{1b}, Mustafa Serdar DEĞER^{1c}

1. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0001-9187-6179^a, 0000-0002-7151-8777^b, 0000-0001-9651-6957^c

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
28.01.2019	20.06.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Bıçek K, Karakus A, Değer MS: Van ilinde *Coenurus cerebralis*'in Yaygınlığı ve Coenurosis'in Teşhisinde Yardımcı Bir Parametre Olarak Enolaz (NSE) Enziminin Önemi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 185-192, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.518785

Öz: Bu çalışmada, Van ilindeki koyunlarda *Coenurus cerebralis*'in yaygınlığı ve mevsimsel insidensi ve coenurosisli hayvanlarda kan serumu Enolaz enzim seviyeleri ELISA testi ile araştırılmıştır. İncelenen hayvanların %64.7'si (241 koyunun 156'sı) *C. cerebralis* yönünden pozitif bulunmuştur. Enfeksiyon oranı koçlarda %35.7, dişi koyunlarda %29 olarak tespit edilmiştir. Coenurosis, 0-1 yaş aralığındaki koyunlarda %46.9 olarak görülürken 2 yaş üstündeki hayvanlarda bu oran %17.8 olarak belirlenmiştir. *C. cerebralis* kistlerinin %32.1 sağ, %46.8'nin sol hemisferine, %12.2' sinin beyinin her iki yarımına birden, %5.1'inin cerebelluma ve occipital bölgeye ise %3.8 oranında yerleştikleri gözlemlenmiştir. Kistlerin beyinin her iki lobunda birden yaygın olarak yalnızca erkeklerde gözlenmesi (dişilerde 0, erkeklerde 19 adet kist) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). *C. cerebralis*'in en yüksek Kasım ayında (%10.4), en az ise Mayıs ayında (%2.1) görüldüğü tespit edilmiştir. İncelenen toplam 80 (40 dişi, 40 erkek koyun) hayvanın kan serumlarındaki Enolaz seviyeleri 5.44–84.96 µg/l olarak belirlenmiştir. Klinik belirti gösteren hayvanların tamamında Enolaz enzimi yüksek bulunurken; semptom göstermeyenlerde sonuçlar Cut-off sınırları içerisinde olduğu görülmüştür. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0.05). Ayrıca istatistiksel olarak dişi ve erkekler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sonuçta Enolaz enziminin, coenurosiste klinik belirtileri gösteren koyunlarda teşhiste yardımcı bir parametre olarak kullanılabilceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Coenurus cerebralis*, Enolaz, Koyun, Prevalans, *Taenia multiceps*.

Prevalence of *Coenurus Cerebralis* in Van, Turkey and the Significance of the Enolase (NSE) Enzyme as a Supporting Parameter in the Diagnosis of Coenurosis

Abstract: This study investigated the prevalence of *Coenurus cerebralis* in sheep in the province of Van, Turkey, its seasonal incidence and serum Enolase enzyme levels with ELISA method. 64.7% of the examined animals (156 out of 241 sheep) were found to be positive in terms of *C. cerebralis*. The rate of infection was found to be 35.7% in male and 29% in female sheep. While coenurosis was seen by 46.9% in sheep in the age range of 0-1 year, it was determined to be seen by 17.8% in sheep over the age of 2 years. *Coenurus* cysts, 32.1% were in the right hemisphere of the brain, 46.8% were in the left hemisphere, 12.2% were in both hemispheres, 5.1% were in the cerebellum and 3.8% were in the occipital region. It was a statistically significant finding that the incidence of the cysts in both hemispheres was found only in males (female: 0 cysts, male: 19 cysts) (P<0.05). *Coenurus* cysts was seen the most frequently in November (10.4%), while it was seen the least frequently in May (2.1%). In the sheep with coenurosis Enolase levels in the blood serum of the total of 80 (40 females, 40 males) animals that were found in the range of 5.44–84.96µg/l. Enolase enzyme levels were found to be high in all animals with clinical symptoms. In patients with no symptoms, the results were found to be within the Cut-off limits. The results were statistically significant (P<0.05). Moreover, there was no significant difference between the males and the females. As a result, it was concluded that the enolase enzyme can be used as an auxiliary parameter in the diagnosis of sheep with clinical signs of coenurosis.

Keywords: *Coenurus cerebralis*, NSE, Prevalence, Sheep, *Taenia multiceps*.

✉ Kamile Bıçek

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
e-posta: kamilebicek@yyu.edu.tr

*Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2015-VF-B333

GİRİŞ

Taenia multiceps'in son konakları köpek, tilki, kurt ve çakal gibi karnivorlar olup son konaklarda ince bağırsaklara yerleşmektedir. *T. multiceps*'in larva formu olan *Coenurus cerebralis* (*C. cerebralis*) ara konak olarak başta koyun nadiren keçi, sığır, geyik, domuz, deve, at gibi otçullarda, çok ender olarak da insanlarda beyin ve omuriliğe yerleşerek, kist oluşturmakta ve yerleştiği yerde ağır hasar meydana getirerek ara konağın ölümüne sebep olmaktadır (1).

Hayvanlar arasında dünya çapında yaygın olarak görülen coenurosis, çiftlik hayvanlarının önemli hastalıklarından biri olarak koyun ve keçi sürülerinde yüksek ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. *Taenia multiceps* yumurtalarının rastlantısal olarak insanlar tarafından kontamine yiyecek ve su ile birlikte alınması ve insanlarda da hastalık oluşturabilmesi zoonoz hastalıklar arasında da önemini artırmaktadır (2).

Coenurus kistlerinin beyindeki yerleşimlerine yönelik yapılan histopatolojik çalışmalarda, kistin yerleştiği bölgede, oluşturduğu basınç atrofisi sebebiyle, doku hasarı, belirgin hiperemi, damarlar çevresinde dev hücreler ile mononükleer hücre infiltrasyonu, mikrogliozis ve astrositozis ve nöronlarda dejenerasyon gibi bulgulara rastlanıldığı belirtilmektedir (3,4).

Koyunlarda *Coenurus cerebralis* (*C. cerebralis*) beyin ve omuriliğe yerleşim göstermekte olup, kistin koyunlarda yerleştiği bölgeler ile ilgili yapılan çalışmalarda larvanın genelde serebral hemisferde görüldüğü kaydedilmiştir. Bununla birlikte *C. cerebralis*'in yerleşmek için beyinde parieto-occipital bölgeyi tercih ettiği konuya ilişkin raporlardan anlaşılmaktadır. Yapılan çalışmalarda *Coenurus* kistlerinin büyük ölçüde koyunların serebral hemisferinde (%83) ve daha çok sağ tarafta yerleştiği (%77.8) belirtilmiştir. Bazı araştırmacılar koyunların cerebellumunda *C. cerebralis*'e rastlamadıklarını ifade ederlerken, bazıları ise paraziti cerebellumda %9.93 oranında gördüklerini kaydetmişlerdir (5,6,7).

Coenurus cerebralis'in (*C. cerebralis*) Etiyopya'daki koyunlarda yaygınlığı %2.5-%4.5 olarak ifade edilmektedir (8,2). İran' da koyunlarda yapılan bir çalışmada coenurosisin %18.65 oranında yaygın olduğu tespit edilmiştir (9). Hindistan' da gerçekleştirilen bir çalışmada *C. cerebralis* prevalansı %12.30 olarak belirtilirken (10), Ürdün' de *C. cerebralis*' in yaygınlığı %3 olarak bildirilmiştir (11).

Türkiye' de gerçekleştirilen birkaç çalışmada *Coenurus cerebralis*'in (*C. cerebralis*) yaygınlığı bildirilmiştir. Bu çalışmalardan biri Uslu ve Güçlü'nün 2004-2005 yıllarında Konya'da gerçekleştirdiği çalışmadır. Bu çalışmada *C. cerebralis*' in erkek koyunlarda %18.57 ve dişi koyunlarda %15.21 oranında yaygın olduğunu bildirilmiştir (7). Gıcık ve ark. (12) Kars bölgesine gerçekleştirdikleri bir çalışmada coenurosisli koyun oranı %15.5 olarak belirtilmiştir. Gökpınar ve Yıldız (13) Kırıkkale bölgesinde klinik bakımdan sağlıklı görünen hayvanlarda yaptıkları bir çalışmada *C. cerebralis*' in yaygınlığı %12 olarak bildirmişlerdir.

İran' da yapılan bir çalışmada, *Coenurus cerebralis* (*C. cerebralis*) kistlerinin beyindeki lokalize olduğu bölgelere bakıldığında %54.63 sol, %40.20 sağ loba ve %5.5 oranında cerebelluma yerleştiği belirtilirken; 2 yaşına kadar olan koyunlarda enfeksiyonun en fazla (%42.02) görüldüğü yine enfeksiyonun en yüksek seyrettiği ay Mart ve en düşük görüldüğü ay ise Haziran ayı olarak belirtilmiştir (9). Etiyopya'da yürütülen bir çalışmada ise, kistlerin %57 oranında beyin sağ lobuna, %43' nün sol loba ve %4' nün de cerebelluma yerleştiği kaydedilmiştir (8). Ürdün'de yapılan bir başka çalışmada, koyunların beyinleri incelenmiş ve kistlerin tamamı 0-2.5 yaş grubundaki hayvanlarda gözlemlendiği bildirilmiştir. Coenurosis'in en yüksek seyrettiği ayın Şubat en düşük görüldüğü ay ise Haziran ayı olarak tespit edildiği bildirilmiştir (11).

Desouky ve ark. (14) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, coenurosisli 25 koyun ve keçinin beyinde şekillenen kistlerin %48'nin sol, %40'nın sağ

hemisferde ve %12'sinin cerebellumda şekillendiği belirtilmiştir. Hayvanların yaşları arasında, enfeksiyona duyarlılık bakımından fark bulunmadığını da bildirmişler. Uslu ve Güçlü (7) yaptıkları çalışmada, kistlerin 75'nin beyin sol ve 66'sının beyin sağ hemisferine yerleştiğini bildirmiş olup, Cerebelluma ise %9.93 nispetinde yerleşim olduğunu gözlemlenmiştir.

Kars ilinde gerçekleştirilen bir çalışmada, kistlerin cerebral hemisferlerde %96.7 ve cerebellum'da ise %3.3 nispetinde lokalize olduğu bildirilmiştir. Enfeksiyon oranı 1 yaşındakilerde %15, 2 yaşındakilerde %21.7 ve 3 yaş ve yukarı koyunlarda %11.4 olarak tespit edilmiştir (12). Kırıkkale ilinde nekropsi sonucuna göre incelenen 100 koyun beyininin 12'sinin (%12) beyinde *Coenurus cerebralis*'e (*C. cerebralis*) rastlanıldığı; dişilerde bu oran %24 erkeklerde ise %8 olarak belirtilirken, enfekte koyunların %50'sinin 2 yaş aralığında olduğu bildirilirken, 3 ve 4 yaş grubundakilerde enfeksiyon oranı sırasıyla %13.3 ve %16.7 olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada 1 yaşındakilerde enfeksiyona rastlanılmamıştır. Yapılan nekroskopik muayene sonucunda kistlerin %83.3'ünün cerebral hemisferlerde, %16.7' sinin ise cerebelluma yerleştiği bildirilmiştir (13).

Uzun yıllar boyunca, enolaz sadece çözünür bir sitozolik glikolitik enzim olarak kabul edilmiştir. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalar, enolazın farklı dağılımı ve biyolojik işlevleri olan bir protein olduğunu göstermiştir. 14.3.2. proteini keşfedildikten sonra glikolitik enolaz (2-fosfo-D-gliserata hidrolaz) aktivitesine sahip olduğu bulunmuş ve Neuron Spesifik Enolaz (NSE) olarak adlandırılmıştır. NSE asidik (PH 5.0) ve suda çözünür bir proteindir; başlıca nöronlar, başlıca kök gangliyonları, otonom gangliyonlar ve nöroendokrin sistemde lokalizedir. Enolaz, (2-fosfo-D-gliserata hidrolaz) glikolizis içerisinde fosfofenol piruvat'ın (PEP) 2 fosfo-D-gliserata (PGA) dehidrasyonunu katalize eden bir çeşit glikolitik enzimdir ve aynı enzim, glikoneogenez sırasında PEP'in PGA'ya hidrasyonunu katalize eder. NSE sinir sisteminin hücrel farklılaşmasında

rol oynar. Bu nedenle sinir sistem ve nöroendokrin sistem gelişmesinde ve bozukluklarında önemli rol oynar (15,16,17,18).

Neuron Spesifik Enolaz (NSE) son zamanlarda iskemik beyin hasarlarında ve beyin travmalarının tespitinde bir biyomarker olarak değerlendirilmektedir (19).

Bu çalışma ile Van ilindeki koyunlarda coenurosis'in varlığını, mevsimsel yaygınlığını ve Neuron Spesifik Enolaz (NSE) enziminin pratikte saha koşullarında bu hastalığın teşhisinde kullanılıp kullanılmayacağını tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Şubat 2016-Ocak 2017 tarihleri arasında her hafta Van Belediye Mezbahasına gidilerek kesime getirilen koyunlardan 5 adet dişi ve erkek olmak üzere, toplam 241 (135 erkek, 106 dişi) koyunun kesim öncesi protokol kayıtları (Yaş, cinsiyet ve kulak numarası) tutulmuş, genel muayeneleri yapılmış ve aynı hayvanlardan 10 cc'lik tüplere kan alınmıştır. Kesim öncesi yapılan muayenelerinde hayvanların 30'unda coenurosis'e yönelik klinik belirtiler (kendi etrafında dönme, boynunu bir tarafta tutma, körlük ve sallantılı yürüyüş) tespit edilmiştir. Kesim öncesi muayenesi yapılırken coenurosis ile karışabilecek hastalıklar da göz önünde bulundurulmuştur. Kesim sonrası kayıtları tutulan koyunların kelleleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesine getirilerek laboratuvar ortamında *Coenurus cerebralis* (*C. cerebralis*) yönünden nekropsi ile muayene edilmiştir. Nekropsi sonucu beyinde *C. cerebralis* kisti bulunduran kronik coenurosisli 80 (40 dişi, 40 erkek) koyunun kan serumları, Enolaz enzimi seviyesi ölçülmesi bakımından, -20 °C' de kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir. Yukarıda belirtilen aynı yöntemle Cut-off değeri belirlemek üzere, beyinde *C. cerebralis* kisti bulundurmayan ve sağlıklı görünümlü 8 koyundan (4 dişi, 4 erkek) kan örnekleri alınmış ve kan serumları muhafaza edilmiştir.

Pozitif olarak bulunan kan serumlarının Enolaz enzim seviyeleri Sheep Neuron-Specific Enolase

(NSE) ELISA kiti (Cat No: YLA0100SH) kullanılarak ölçülmüştür.

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir ve etik kurul onayı gerektirmeyen çalışma kapsamında değerlendirilmiştir. Proje No: No: 2015-VF-B333

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel Analiz: SPSS 21 ve Z testi istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Yapılan nekropsi sonucunda toplam 241 koyunun 156' sının (%64.7) beyinde *Coenurus cerebralis* (*C. cerebralis*) kistlerinin mevcut olduğu görülmüştür. 70/241 (%29) dişilerde ve 86/241 (%35.7) erkek bireylerde *Coenurus* kistleri tespit edilmiştir.

Tablo 1. *Coenurus* kistlerinin dişi ve erkek hayvanlarda varlığı ve hayvanların yaşlarına göre istatistiği.

Table 1. Presence of *Coenurus* cysts in male and female animals and statistics of animals according to their ages.

	POZİTİF	NEGATİF	p.
DİŞİ	70	36	,001
ERKEK	86	49	,001
0-1 YAŞ	113	65	,001
2-3 YAŞ	43	20	,001

İstatistik sonucuna göre *Coenurus cerebralis* (*C. cerebralis*) kistlerinin dişi ve erkek koyunlarda bulunuşu ve farklı yaş gruplarında *Coenurus* kistlerinin varlığı arasındaki fark $P < 0.05$ anlamlı bulunmuştur (Tablo 1).

Yaş olarak değerlendirildiğinde 0-1 yaş arası 113/241 (%46.9) koyunda kistler bulunurken; 1 yaş üstü 43/241 (%17.8) koyun *Coenurus cerebralis* (*C. cerebralis*) yönünden pozitif bulunmuştur.

Tablo 2: 1 yaş ve >2 yaş gruplarının pozitiflik oranlarının karşılaştırılması için z oran testi.

Table 2: Z ratio test for comparison of positivity rates of 1 year old and > 2 age groups.

İki Oran İçin Test ve CI (Güven aralığı)			
Örnek	X	N	Örnek p
1	65	178	0.365169
2	43	63	0.682540
Fark = p (1) - p (2)			
Yaklaşık fark: -0.317371			
Fark için 95% CI: (-0.452334; -0.182408)			
Fark için Test = 0 (vs \neq 0): Z = -4.61 P-Değeri = 0.000			
Fisher's exact test: P-Değeri = 0.000			

Pozitiflik oranları açısından yaş grupları arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur (Z=-4.61, $P < 0.05$) (Tablo 2).

Kistlerin yerleşim bölgelerine göre değerlendirildiğinde sağ loba %32.1, sol loba %46.8, hem sağ hem de sol lob birlikte %12.2, cerebellumda %5.1 ve occipital bölgeye %3.8 oranında kistlerin yerleştikleri gözlemlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. *Coenurus* kistlerinin beyinde yerleşim bölgelerine göre istatistiği.

Table 3. Statistics according to settlement of *Coenurus* cysts in the brain.

	Dişi	Erkek	p.
Sol Lob	35	38	.469
Sağ Lob	27	23	.116
Sağ+Sol Lob	0	19	.001
Beyincik	5	3	.318
Occipital bölge	3	3	.799
TOPLAM	70	86	

Coenurus kistlerinin cinsiyete göre beyinde yerleştikleri bölgeler arasında istatistik olarak anlamlı fark bulunmuştur. Bölgelere göre pozitiflik durumu cinsiyet açısından değişiklik göstermektedir. ($P < 0.05$) (Tablo 3).

Coenurus cerebralis'in (*C. cerebralis*) en sık görüldüğü ay Kasım ayı %10.4 olarak, daha sonra bunu takiben Ekim %8.3 olarak, Aralık ve Eylül ayı ise %7.5, Ocak %5.8, Ağustos %5.4, Şubat %4.6, Temmuz %4.1, Mart %3.7, Nisan %2.9, Haziran %2.5, Mayıs ise %2.1 olarak tespit edilmiştir.

Test sonuçlarına göre, 80 koyunun 30'unda (%37.5), kan serumu NSE düzeyi yüksek bulunurken;

50 (%62.5) hayvanda enzim seviyesi Cut-off sınırları içerisinde olduğu görülmüştür (Tablo 4).

Tablo 4. Dişi ve erkek hayvanlar arasında kan serumunda ölçülen Enolaz enzim seviyesi istatistiği.
Table 4. Statistics of Enolase enzyme levels between female and male animals.

Toplam İstatistik				
	Cinsiyet	N	Anlam	Std. Sapma Std. Hata
Değer	Dişi	40	60.8373	7.67676 1.21380
	Erkek	40	60.2010	15.13942 2.39375

N: Toplam
Std.: Standart

Dişi (M=60.83, Ss= 7.67) ve erkeklerin (M=60.20, Ss=15.13) ortalamaları açısından fark olup olmadığı bağımsız örnekler t testi (independent t test) ile test edilmiştir;

t (57,812)=,237, p=,813. P>0.05 olduğundan değeri açısından erkek ve dişi koyunlar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.

Tablo 5. Tüm koyunlarda kan serumlarında ölçülen Enolaz enzim seviyesi istatistiği.

Table 5. Enolase enzyme level statistics from blood sera in all sheep.

Tek örnek test				
Test Aralığı = 57.7				
T	Df	Sig.(2-tailed)	Mean Difference	95% güven aralığı Min. Max
NSE 3.494	73	.001	2.62554	1.1279 4.1232

NSE: Neuron Spesifik Enolaz
Min: Minimum
Max: Maximum

İstatistik analiz tespit edilmiş Cutt – off (57.7) değere göre yapılmıştır. Yapılan tek örnek t testi (one sample t test) sonucu göre sağlıklı bir koyunda görülen NSE üst düzey seviyesi 57.7 µg/L göre (M=60.3255, SD=6.46413) ELISA test sonucu enolase (NSE) değerleri 57.7 µg/L değerinden anlamlı biçimde yüksek çıkmıştır; (t(73)=3.494, P<0.05) (Tablo 5).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bizim yaptığımız bu çalışmada, mezbahaya kesim için getirilen toplam 241 koyunun 156 'sında (%64.7) hayvanların beyin çeşitli bölgelerinde lokalize olmuş bir ya da birden fazla *Coenurus*

cerebralis (*C. cerebralis*) kistleri görülmüştür. Yıllık bazda hesaplanan bu oran diğer araştırmacıların farklı bölgelerde yürüttükleri çalışmalardan yüksek bir orandır.

Erkek hayvanlarda %35.7 ve dişilerde %29 oranında *Coenurus* kistleri gözlemlenmiştir. Erkeklerde bulunan kist miktarı dişilerden yüksek orandadır. Benzer sonuçlar Uslu ve Güçlü (7)' nün yaptığı çalışmada görülürken; Gıcık ve ark. (12), Gökpınar ve Yıldız (13)' in çalışmalarının sonucunda dişilerde daha yüksek miktarda kist bulunduğu bildirilmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada enfeksiyon oranının 0-1 yaş aralığında yüksek seyrettiği (%46.9) görülmüştür. Pozitif olarak bulunan koyunların %46.9'unun 0-1 yaş aralığında olması genç yaştaki bireylerin hastalığa daha duyarlı olduğunu göstermektedir. 2 yaş üstündeki bireylerde bu oran %17.8 olarak belirlenmiştir. Yaşa göre yapılan istatistik sonucuna göre yaşlar arasında önemli bir fark mevcuttur. Kadırov (20), deneysel olarak gerçekleştirdiği bir çalışmada 1 yaşına kadar olan genç bireylerde enfeksiyon oranının daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Bondareva ve ark. (21), coenurosis'e en hassas hayvan olarak kuzular olduğunu ifade etmişlerdir. Tiğin (22), yapmış olduğu bir çalışmada hastalığa duyarlı olunan dönemin bir yaşına kadar olan süre olduğu, yaş ilerledikçe hastalanma riskinin azaldığı belirtilmektedir. Bu çalışmadaki yaşa göre enfeksiyon oranları Gıcık ve ark. (12) ve Gökpınar ve Yıldız (13)'in araştırma sonuçlarıyla uyuşmamaktadır. İran'da (9) yapılan bir çalışmada coenurosisin en fazla 0.5 - 2 yaş arası koyunlarda görüldüğü (%42.2), Ürdün'de (11) 1 yaşına kadarki hayvanlarda %33, Etiyopya' da, Achenev ve ark. (8) ise 24 aylığa kadar enfeksiyonun en yüksek seyrettiği belirtilmektedir. Bizim gerçekleştirdiğimiz bu çalışma Ürdün çalışmasıyla uyumludur. Diğer araştırmacılar 2 yaş ve sonrasını göz önünde tutmuşlar biz ise 1 yaş ve üstü aldığımız için nispeten bir uyumluluk söz konusudur.

Yapılan çalışmalarda kistlerin beyinde yerleşim yerine göre sağ loba, sol loba veya cerebelluma

yerleşim nispeti farklı bildirilmiştir. Yapılan bu çalışma neticesinde kistlerin, sağ loba %32.1, sol loba %46.8, hem sağ hem de sol lobda birlikte %12.2, cerebellumda %5.1, occipital bölgeye %3.8 oranında yerleştikleri gözlemlenmiştir. Bu oranlar Uslu ve Güçlü (7)' nün %12.7 sağ, %17.2 sol hemisfer ve %3.5 cerebellum, Tavassolive ark. (9)' nın %54.63 sol, %40.20 sağ cerebellum ve Desouky ve ark. (14)'nin %48 sol, %40 sağ ve %12 cerebellum yaptığı çalışmaların bulguları ile uyumlu olduğu görülürken; Etiyopya' da (8) gerçekleştirilen çalışmanın %57 sağ, %43 sol ve %4 cerebellum olarak kistlerin yerleşim yerlerinin sonuçları ile uyuşmamaktadır. Çalışmamızın bulgularından biri de, dişilerde ve erkeklerde kistler yerleşim yeri olarak beyin her iki yarımını seçebilmekte ancak, kistin beyin her iki hemisferinde yaygın olarak görülmesi sadece erkek bireylerde gözlenmiş olmasıdır. Elde ettiğimiz bulgulara göre her iki hemisferde birden bulunan kist adedi erkeklerde 19 iken dişilerde bu şekilde bir yerleşimin hiç gözükmemiş olması önemli görülmüştür. İstatistiksel olarak da sonuç anlamlı bulunmuştur.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile *Coenurus cerebralis*'in (*C. cerebralis*) en sık görüldüğü ay Kasım ayı %10.4 daha sonra bunu takiben Ekim %8.3, Aralık ve Eylül %7.5, Ocak %5.8, Ağustos %5.4, Şubat %4.6, Temmuz %4.1, Mart %3.7, Nisan %2.9, Haziran %2.5, Mayıs ise %2.1 olarak tespit edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda *C. cerebralis*' in görülme sıklığı farklı aylar olarak verilmiş olabilir. Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar mevsimsel iklim değişikliklerinden kaynaklandığı söylenebilir. Fakat gerçekleştirilen çalışmalardaki ortak nokta, coenurosisin en sık sonbahar kış en az ise yaz aylarında görülmesidir (7, 9, 11, 12). Dolayısıyla hastalığın önüne geçilebilmesi ya da bu hastalıkla mücadele edilebilmesi için bu aylara göre dağılım şemasının göz önünde tutulması faydalı olacaktır.

Coenurus cerebralis' in (*C. cerebralis*) ara konaklardaki teşhisi, hastalığın geçmişi, klinik belirtileri ve postmortem muayenesiyle yapılmaktadır. Coenurosis'te kullanılan ilaçlar yapılan

çalışmalar ile bildirilmiştir (19,23,24, 25). Hastalığın teşhisinde bahsedilen zorluklar dolayısıyla ve meydana getirdiği ekonomik kayıpların önüne geçilmesi aynı zamanda hayvan sağlığı açısından bir biyomarker (18) olarak görülen enolaz enzim seviyesi bir ön çalışma niteliğinde yaptığımız bu çalışma ile ölçülmüştür.

Bu çalışmada, *Coenurus cerebralis*'li (*C. cerebralis*) hayvanların %37.5'sinde kan serumları enolaz enzimi düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Serum NSE düzeyi yüksek bulunan numuneler coenurosis yönünden klinik belirti gösteren hayvanlar olup, semptom göstermeyen koyunlarda enzim düzeyi Cut-off sınırları içerisinde kaldığı görülmüştür. Serumdaki enzimin yüksekliği, hastalığın ilerlemesiyle birlikte kistlerin beyinde oluşturdıkları basınç atrofisi sonucu oluşan kistin çevre doku ve hücrelerde meydana gelen hasardan kaynaklandığı muhtemeldir. İstatistiksel olarak, dişi ve erkekler arasında enolaz seviyesi bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bu çalışmada, *Coenurus cerebralis*'in (*C. cerebralis*) bölgedeki yaygınlığının araştırılması ve aynı zamanda merada besicilikle yetiştirilen hayvanların kan serum Neuron Spesifik Enolaz (NSE) düzeylerinin coenurosis'in teşhisinde ne ölçüde kullanılabileceği amaçlanmıştır.

Sonuç olarak, coenurosisin bölgedeki hayvanlarda yüksek oranda gündemini koruduğu ve hayvan sağlığı ve yetiştirici açısından oldukça büyük ekonomik kayıplara sebep olduğu görülmektedir. Bu nedenle coenurosis'i önleyici tedbirlerin bir an önce alınması bölge yetiştiriciliği adına oldukça önemli olacaktır. Yine, coenurosis'te serum Neuron Spesifik Enolaz (NSE) seviyelerindeki yükselişinin hastalığın klinik belirtisini gösteren hayvanlar için teşhiste yardımcı bir parametre olarak kullanılabileceği fakat, semptom göstermeyen koyunlarda ise hastalığın teşhisi açısından faydalı olmayacağı kanaatine varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Eckert J., Friedhoff KT., Zahner H., Deplazes P., 2005. Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. 2th ed., 203-231, Enke Verlag, Stuttgart, Germany.
2. Gashe M., Sewalem M., 2017. Review on cerebral coenurosis in small ruminants. APG, 8, 130-138.
3. Kheirandish R., Sami M., Azizi S., Mirzaei M., 2012. Prevalence, predilection sites and pathological findings of *Taenia multiceps coenuri* in slaughtered goats from south-east Iran. Onderstepoort J Vet Res, 79,1-5.
4. Yılmaz R., Özyıldız Z., Yumuşak N., 2014. Koyunlarda *coenurus cerebralis*'in patomorfolojik bulguları. Harran Üniv Vet Fak Derg, 3, 73-77.
5. Schineder T., 2006. Zönurose. In "Veterinerinarmedizinische Parasitologie" Ed., J Boch, C Bauer, 6 ed., 188-190, vollstanding überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey, Germany.
6. Sharma DK., Chauhan PPS., 2006. Coenurosis status in Afro-Asian region: Areview. Small Rum Res, 64, 197-202.
7. Uslu U., Güçlü F., 2007. Prevalence of *coenurus cerebralis* in sheep Turkey. Medycyna Wet, 63,678-680.
8. Achenef M., Markos T., Feseha G., Hibret A., Tembely S., 1999. *Coenurus cerebralis* infection in Ethiopian Highland Sheep: Incidence and observations on pathogenesis and clinical signs. Trop Anim Health Prod, 31, 15-24.
9. Tavassoli M., Malekifard F., Soleimanzadeh A., Tajik H., 2011. Prevalence of *coenurus cerebralis* in sheep in Northwest of Iran. Vet Res Forum, 2, 274-276.
10. Soundararajan C., Sivakumar T., Balachandran C., 2017. *Coenurus cerebralis* and its pathology in an organized farm of Tamil Nadu. J Parasit Dis, 41, 510-513.
11. Abo-Shehada MN., Jebreen E., Arab B., Mukbel R., Torgerson PR., 2002. Prevalence of *taenia multiceps* in sheep in northern Jordan. Prevent Vet Med, 55, 201-207.
12. Gıcık Y., Kara M., Arslan MÖ., 2007. Prevalence of *coenurus cerebralis* in sheep in Kars province, Turkey. Bull Vet Inst Pulawy, 51, 379-382.
13. Gökpinar S., Yıldız K., 2012. Prevalence of coenurosis in clinically healthy sheep. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 18, A187-A191.
14. Desouky EA., Badawy Al., Refaat RA., 2011. Survey on coenurosis in sheep and goats in Egypt. Vet Ital, 47, 333-340.
15. Bock E., Dissing J., 1975. Determination of enolase activity connected to the 7 brain specific protein 14-3-2. Scand J Immunol, 4, 31-36.
16. Marangos PJ., Schmechel DE., 1987. Neuron specific enolase, a clinically useful marker for neurons and neuroendocrine cells. Annu Rev Neurosci, 10, 269-295.
17. Pancholi V., 2001. Multifunctional alpha-enolase: its role in diseases. Cell Mol Life Sci, 58, 902-920.
18. Lima JE., Takayanagui OM., Garcia LV., Leite JP., 2004. Use of neuron-specific enolase for assessing the severity and outcome in patients with neurological disorders. Braz J Med Biol Res, 37, 19-26.
19. Haque A., Ray SK., Cox A., Banik NL., 2016. Neuron specific enolase: a promising therapeutic target in acute spinal cord injury. Metabolic Brain Dis, 31, 487-495.
20. Kadırov NT., 1959. The epizootiology of moniesiasis and coenuriasis of sheep in the Akmolinsk region. Veterinariya, 36, 30-32.
21. Bondareva VI., Boev SN., Sokolova IB., 1960. Comparative susceptibility of domestic and wild animals to *Coenurus* infection. Helminthologia, 2, 224-234.
22. Tiğın Y., 1970. *Multiceps multiceps* Leske, 1780 (Hall, 1910) biyolojisi ve morfolojisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 17, 114-135.
23. Verster A., Tustin RC., 1982. Treatment of the larval stage of *Taenia multiceps* with praziquantel. J S Afr Vet Assoc, 53, 107-108.

24. Ghazaei C., 2005. Evaluation of the effect of antihelminthic agents albendazole, fenbendazole and praziquantel in treatment of coenurosis disease in sheep. J Anim Vet Adv, 4, 852-854.
25. Bıyıkoğlu G., Dođanay A., 1998. Effects of praziquantel and albendazole on coenurus cerebralis in experimentally infected lambs. Turk J Vet Anim Sci, 22, 43-48.



Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz, Glutasyon Peroksidaz, Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat ve Glutasyon ile Süt Kalite Parametreleri Arasındaki İlişkiler *

Zeynep AKIN^{1a}, Pınar Peker AKALIN^{1b}, Filiz KAZAK^{1c✉}, Yaşar ERGÜN^{2d}, Nuri BAŞPINAR^{3e}

1. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.
 2. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.
 3. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0001-8812-3176^a, 0000-0002-6991-3727^b, 0000-0002-9065-394X^c, 0000-0002-1414-9100^d, 0000-0002-5481-1111^e

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
19.04.2019	20.06.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Akın Z, Akalın PP, Kazak F, Ergün Y, Başpınar N: Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz, Glutasyon Peroksidaz, Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat ve Glutasyon ile Süt Kalite Parametreleri Arasındaki İlişkiler. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 193-200, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.555594

Öz: Bu çalışmada; Holstein ırkı sığırlarda süt G6PD, GPx, redükte NADPH ve rGSH düzeyleri ile süt verimi ve süt kalitesi ile arasındaki ilişkilerin belirlenmesi, böylelikle ilgili parametrelerin süt kalitesi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Klinik olarak sağlıklı 20 adet Holstein ırkı sığırdan süt örnekleri toplanmıştır. Süt verimi çiftlikte tutulan rutin kayıtlardan tespit edilmiştir. Sütlerde kalite parametreleri olan süt yağı %, protein %, laktoz %, kuru madde %, yağsız kuru madde %, üre % ve kazein % analizleri süt komponentleri ölçüm cihazı ile, süt hücre süpernatantlarında G6PD ve GPx aktiviteleri ile NADPH, rGSH ve total protein düzeyleri ise spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Süt laktoz düzeyleri ile süt hücre G6PD aktivitesi ($r=-0.574$, $p<0.05$) ve NADPH düzeyleri ($r=-0.485$, $P<0.05$) arasında negatif korelasyonlar belirlenmiştir. Süt somatik hücre sayısı ile süt hücre G6PD aktivitesi ($r=0.708$, $P<0.01$) ve süt hücre NADPH düzeyleri ($r=0.609$, $P<0.01$) arasında pozitif korelasyonlar belirlenmiştir. Süt somatik hücre sayısı ile süt hücre NADPH düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon ($r=0.630$, $P<0.01$) belirlenmiştir. Sonuç olarak sağlıklı inek sütünde, anılan parametreler ile süt verimi ve süt kalite parametreleri arasında, laktoz ve G6PD dışında, belirgin bir korelasyon belirlenmemiştir. Laktoz ile G6PD arasındaki bu ilişkinin yapılacak çalışmalar ile detaylandırılması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: G6PD, NADPH, Somatik hücre sayısı, Süt kalite parametreleri.

The relationships of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, Glutathione Peroxidase, Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate and Glutathione with Milk Quality Parameters

Abstract: In this study, it was aimed to determine the relationship between with G6PD, GPx, NADPH, rGSH and milk yield and milk quality, to evaluate the effect of these parameters on milk quality, in Holstein cattle. Milk samples were collected from 20 healthy Holstein cattle. Milk yield was obtained from routine farm datum. The analyses of milk fat %, protein %, lactose %, non-fat dry matter %, urea % and casein % were held by "milk components measuring instrument", and G6PD and GPx activities in milk cell supernatants along with NADPH, rGSH and the total protein levels were assessed by spectrophotometric methods. Milk lactose levels (%) were negatively correlated with milk cell G6PD activity ($r=-0.574$, $P<0.05$) and NADPH levels ($r=-0.485$, $P<0.05$). Milk cell G6PD activity ($r=0.708$, $P<0.01$) and milk cell NADPH levels ($r=0.609$, $P<0.01$) were positively correlated with somatic cell count. A positive correlation ($r=0.630$, $P<0.01$) was determined between the somatic cell count and milk cell NADPH levels. In conclusion, there was no correlation between milk yield and milk quality parameters with the related parameters, except for lactose levels, in healthy cattle milk. It is suggested to investigate the relationship between lactose and G6PD with further studies.

Keywords: G6PD, NADPH, Milk quality parameters, Somatic cell count.

✉ Filiz Kazak

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.
e-posta: filizkazak@mku.edu.tr

*Bu çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde yürütülmüş olan yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Bileşiminde çok sayıda besin ögesini bulundurmasından dolayı süt ve süt ürünleri insan hayatının tüm evrelerinde tüketilmesi önerilen besinlerin başında gelmektedir. Süt ve süt ürünlerinin değerini belirleyen en önemli faktör sütün bileşimidir. Sütün bileşiminde bulunan yağ, protein, laktoz, vitamin, enzim, hormon ve peptit yapılı öğeler önemli bir yere sahiptir. Günümüzde sütte kalite; etkin kontrol ve denetimin yapılabilmesi ve halk sağlığının korunabilmesi amacıyla 'çiftlikten sofraya gıda güvenliği' olarak ifade edilmektedir (1). Süt kalite parametreleri süt somatik hücre sayısı (2, 3), protein (4), yağ (5), laktoz (6) ve toplam kuru madde miktarı (5) olarak bildirilmektedir.

Somatik hücre; kandan süte geçmiş lökositler ve meme bezi epitel hücrelerinden oluşmaktadır (7). Tüm süt tipleri, polimorfonükleer hücreler, lenfositler ve makrofajlarla temsil edilen belirli bir miktarda somatik hücre içerir. Süt somatik hücrelerinin çok büyük bir kısmını lökositler (lenfosit, nötrofil ve makrofaj) oluştururken daha düşük bir kısmını epitel hücreleri oluşturur. Somatik hücre sayımı, sütün hijyenik kalitesinin bir göstergesi olarak kullanılır (8).

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD, EC 1.1.1.49); bakteri, mantar, protozoa, balık ve memelileri içeren geniş bir canlı topluluğunda bulunmaktadır. Bu nedenle her canlıda var anlamına gelen 'ubiquitous' enzim olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca üstlendiği biyokimyasal rol nedeni ile 'housekeeping' enzim olarak da isimlendirilmektedir (9, 10). Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, memelilerde redükleyici ajan olarak görevli sitozolik redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH+H⁺)'in oluşumu için tek kaynak olan pentoz fosfat yolunun ilk ve hız belirleyici enzimidir. Pentoz fosfat yolunun temel amacı, redükleyici güce sahip olan NADPH+H⁺ ile DNA ve RNA'nın yapı taşı olan riboz-5-fosfat üretmektir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, rejenere edilen glutatyon (GSH) sayesinde hücre membranlarının serbest radikallerden korunmasını sağlayarak hücre bütünlüğünü korur (11). Glutatyon

peroksidaz (GPx), redükte GSH (rGSH)'ı oksitleyerek okside glutatyon (GSSG)'a dönüşümünü katalize ederken, önemli toksik maddelerden biri olan hidrojen peroksit (H₂O₂)'in moleküler oksijen ve suya dönüşümünü sağlar (12). Meme dokusu epitel hücreleri ve süt lökositlerinden izole edilen G6PD, meme dokusunda ihtiyaç olan NADPH+H⁺'ların üretimini sağlayan önemli bir enzim olarak kabul edilmektedir. Meme dokusu, süt üretimi için farklılaştıkça, NADPH+H⁺ ihtiyacı ve buna bağlı olarak G6PD aktivitesi de değişmektedir (13).

Bu kapsamda, sunulan çalışmada Holstein ırkı sığırlarda süt hücre süpernatantlarında G6PD ve GPx aktiviteleri ve NADPH, rGSH ve total protein (TP) düzeyleri ile süt kalite parametreleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Özel bir süt işletmesinden klinik olarak sağlıklı 20 adet Holstein ırkı sığırdan süt örnekleri toplandı. Sütler (200'er mL), klinik olarak sağlıklı görünen memelerin ön sağ lobundan alındı. Süt verimi ile ilgili veriler, nisan ayı içinde, çiftlikte tutulan kayıtlardan elde edildi.

Süt Verimi ve Kalite Analizleri

Süt kalite analizleri için alınan süt örneklerinde somatik hücre sayımı Somacount 150 hücre sayım cihazında; % olarak süt örneklerinde yağ, protein, laktoz, kuru madde, yağsız kuru madde, üre ve kazein analizleri ise süt komponentleri ölçüm cihazı (Bentley 150) ile yapıldı.

Süt Numunelerinin Hazırlanması

Sütler somatik hücrelerin ayırılması için 800 x g'de +4 °C'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üstteki yağ tabakası koton bir aparat ile alındıktan sonra üstteki süpernatant uzaklaştırılarak kalan pellet 2 defa soğuk fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı ve her defasında 1800 x g'de +4 °C'de 15 dk santrifüj edildi. Sonunda üstteki süpernatant ayrıldı ve kalan pellete PBS eklenerek soğuk ortamda

10 sn süreli, devamlı siklusta, 30 sn soğutmalı, 4 tekrarlı sonikasyon işlemi uygulandı (14). Sonikasyon sonrasında homojenat 13.000 x g'de +4 °C'de 15 dk santrifüj edilerek üstteki süpernatant toplandı. Süpernatantlar, analizler yapılıncaya kadar -80 °C'de saklandı.

Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesinin Tayini

Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi, Beutler (13) tarafından geliştirilen yöntemin modifikasyonu ile belirlendi. Analiz sırasında, süpernatanttan 200 µL kullanıldı. Aktivite tayini, 25 °C'deki NADP⁺'nin 340 nm'deki absorbands değişimi spektrofotometrik olarak (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) ölçüldü. Sonuçlar U/g protein ve U/10⁹ hücre olarak ifade edildi.

NADPH Düzeyi Tayini

NADPH düzeyleri ticari kit (Sigma MAK 038) ile belirlendi. Analiz sırasında, süpernatanttan 60 µL kullanıldı. Sonuçlar pmol/mg protein ve pmol/10⁶ hücre olarak ifade edildi.

Redükte Glutasyon Tayini

Süt hücre süpernatantlarında rGSH aktiviteleri Ellman (15) tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi. Analiz sırasında, süpernatanttan 250 µL kullanıldı. 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit], sülfhidril bileşikler tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturmaktadır. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) ölçülerek GSH aktivitesi saptandı. Sonuçlar nmol/mg protein ve nmol/10⁶ hücre olarak ifade edildi.

Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Tayini

Glutasyon peroksidaz aktivitelerinin tayini Beutler (16) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. Analiz sırasında, süpernatanttan 20 µL

kullanıldı. Buna göre; GPx, H₂O₂ varlığında GSH'yi GSSG'ye dönüşmesini katalize etmektedir. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla tekrar GSH'a dönüştürülür. Glutasyon peroksidaz aktivitesi, deney ortamındaki NADPH'nin NADP⁺'ya çevrilmesi ile optik dansitede oluşan absorbands farkınının 340 nm'de spektrofotometrik olarak (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) ölçülmesi ile hesaplandı. Sonuçlar U/mg protein ve U/10⁶ hücre olarak ifade edildi.

Total Protein Düzeyleri

Total protein düzeyleri, Bradford (Coomassie Brilliant Blue G, Sigma 27815) yöntemi (17) ile belirlendi. Standart olarak sığır serum albümini (BSA, Sigma-A2153) kullanıldı. Yöntem, boyar maddenin proteinlere bağlanarak renk oluşturması prensibine dayanmaktadır. Absorbans 595 nm'de belirlenerek, spektrofotometrik (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) olarak protein miktarı tayini gerçekleştirildi. Numunelerin TP düzeyleri belirlenerek, enzim aktiviteleri mg/g protein üzerinden verildi. Total protein sonuçları mg/mL ve mg/10⁶ hücre olarak ifade edildi.

İstatistiksel Analiz

Biyokimyasal analizlerden elde edilen değerlerde, SPSS 23.0 programında descriptive analizleri yapıldı. Parametreler arasındaki korelasyonlar Spearman Testi ile belirlendi. Önem derecesi P<0.05'in altında olanlar istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

BULGULAR

Süt somatik hücre sayısı (SHS) ve süt hücre süpernatantlarında TP, NADPH, rGSH düzeyleri ile G6PD ve GPx aktiviteleri Tablo 1'de, süt kalite parametreleri sonuçları Tablo 2'de ve süt kalite parametreleri ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 1. Süt somatik hücre sayısı ve süt hücre süpernatantlarında TP, NADPH, rGSH düzeyleri ile G6PD, GPx aktiviteleri (Ort±SH).**Table 1.** Milk somatic cell count and the levels of TP, NADPH, rGSH and the activities of G6PD, GPx in milk cell supernatants (Mean ± SE).

Parametreler	SHS/mL süt x 10 ³	TP mg/mL	TP mg/10 ⁶ hücre	NADPH pmol/mg protein	NADPH pmol/10 ⁶ hücre	rGSH nmol/mg protein	rGSH nmol/10 ⁶ hücre	G6PD U/g protein	G6PD U/10 ⁹ hücre	GPx U/mg protein	GPx U/10 ⁶ hücre
n=20	152.19±48.67	0.18±0.03	0.41±0.10	5.99±0.78	1.86±0.37	142.16±37.06	4.42±1.50	8.74±2.34	0.18±0.04	18.79±1.90	0.63±0.13

SHS:Somatik Hücre Sayısı ; TP: Total Protein; NADPH:Redükte nikotinamid adenin dinükleotid; rGSH:Redükte Glutatyon; G6PD:Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz; GPx:Glutatyon Peroksidaz.

Tablo 2. Süt kalite parametreleri (Ort ±SH).**Table 2.** Milk quality parameters (Mean ± SE).

Parametreler	Yağ %	Protein %	Laktoz %	Kuru Madde %	Yağsız Kuru Madde %	Üre %	Kazein %	Verim (1 aylık)
n=20	2.071±0.37	3.50±0.04	4.78±0.06	9.01±0.38	8.94±0.08	6.75±0.62	2.44±0.04	27.36±0.88

Tablo 3. Süt kalite parametreleri ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r değeri).**Table 3.** Correlations between milk quality parameters and biochemical parameters (r value).

	Protein %	Laktoz %	KM %	YKM %	Üre %	Kazein %	SHS	TP mg/ml	G6PD U/ml	NADPH pmol/ml	rGSH nmol/ml	GPx U/ml	Aylık Süt Verimi
Yağ%	0,516	0,066	0,230	0,362	0,250	0,501*	-0,087	-0,196	-0,046	0,032	0,000	0,039	-0,270
Protein%		0,372	-0,102	0,816**	-0,140	0,907**	0,091	0,381	-0,022	0,153	-0,156	0,305	-0,050
Laktoz%			-0,076	0,805**	-0,149	0,388	-0,407	-0,105	-0,574*	-0,485*	-0,098	0,266	0,220
KM %				-0,161	-0,075	-0,188	-0,119	0,095	-0,076	0,022	0,215	0,128	-0,447
YKM %					-0,136	0,805**	-0,155	0,143	-0,327	-0,110	-0,170	0,375	0,101
Üre%						0,010	-0,186	-0,450	0,211	-0,159	0,271	0,085	0,146
Kazein%							0,029	0,287	-0,063	0,133	-0,140	0,241	-0,056
SHS								0,149	0,708**	0,630**	0,036	0,153	-0,235
TP mg/ml									0,102	0,338	0,070	-0,078	-0,077
G6PD U/ml										0,609**	0,210	0,110	-0,185
NADPH pmol/ml											-0,094	-0,044	-0,400
rGSH nmol/ml												0,143	0,047
GPx U/ml													0,011

SHS:Somatik Hücre Sayısı; KM: Kuru madde; YKM: Yağsız Kuru Madde; TP: Total Protein; G6PD:Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz; NADPH:Redükte nikotinamid adenin dinükleotid; rGSH:Redükte Glutatyon; GPx: Glutatyon Peroksidaz *P<0.05. **P<0.01.

Süt protein (%) düzeyleri ile süt yağ düzeyleri (%) arasında pozitif korelasyon ($r=0.506$, $P<0.05$) belirlendi. Süt protein düzeyleri (%) ile süt kazein düzeyleri (%) ($r=0.907$, $P<0.01$) ve süt yağsız kuru madde düzeyleri (%) ($r=0.816$, $P<0.01$) arasında yüksek pozitif korelasyonlar belirlendi. Süt yağsız kuru madde (%) düzeyleri ile süt laktoz (%) düzeyleri ve süt kazein (%) düzeyleri arasında ($r=0.805$, $P<0.01$) pozitif korelasyon belirlendi ($r=0.805$, $P<0.01$). Süt hücre G6PD aktivitesi ile süt laktoz (%) düzeyleri ($r=-0.574$, $P<0.05$) arasında negatif korelasyon, süt hücre G6PD aktivitesi ile süt somatik hücre sayısı ($r=0.708$, $P<0.01$) ve süt hücre NADPH düzeyleri ($r=0.609$, $P<0.01$) arasında ise pozitif korelasyonlar belirlendi. Süt hücre NADPH düzeyleri ile süt laktoz (%) düzeyleri ($r=-0.485$, $P<0.05$) arasında negatif korelasyon belirlendi (Tablo 3).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde rutin olarak süt kalite kriterlerinin belirlenmesinde duyuşal olarak; sütte renk, tat, koku, yapı ve görünüş, kimyasal olarak; asitlik, alkol ve kaynama testi, kuru madde, laktoz ve yağ miktarı, ayrıca donma noktası gibi parametreler belirlenmektedir. Yapılan literatür taramalarında, süt ile ilgili biyokimyasal çalışmalar daha çok mastitis olguları (18-23) üzerinde yoğunlaşmıştır. Sunulan çalışma ile sütün bileşiminde bulunan kalite parametreleri ile pentoz fosfat yolağının ilk ve hız belirleyici basamağında bulunan G6PD enzimi ve ilgili parametreler arasındaki ilişkilerin varlığı araştırılmış olup, olası ilişkiler yorumlanmaya çalışılmıştır.

Genel olarak sütte protein, yağ, laktoz gibi temel kimyasal bileşenler büyük miktarda yer alır. Ancak küçük miktardaki bileşenlerin de sütün özelliklerine katkısı büyüktür. Sütte bulunan önemli bileşenler; laktoz, süt yağı, kazein, laktoalbümin ve laktoglobülinidir. Sunulan çalışmada sütteki kuru madde 9.01 ± 0.38 , yağ 2.071 ± 0.37 , laktoz 4.78 ± 0.06 ve protein 3.50 ± 0.04 düzeylerinde bulunmuştur. İnek sütünün kuru maddesinin $10.5-14.5$ olduğu, bu oranın $2.5-6.0$ 'sının yağ, $3.6-5.5$ 'unun laktoz, $2.9-5.0$ 'ünün protein ve $0.6-$

0.9 'unun mineral madde şeklinde olduğu bildirilmektedir (1). Sunulan çalışmada elde edilen süt kalite parametrelerinden kuru madde ve yağ düzeylerinin, literatürde belirtilen değerlerden biraz düşük olduğu belirlenmiştir.

İnek sütünün yaklaşık $3-3.5$ 'i proteindir ve yüksek kaliteli protein olarak kabul edilir. İnek sütü proteini, peynir altı suyu proteinleri ve kazeinin yanı sıra, enzimler ve az miktarda protein olmayan azotlu bileşiklerden oluşur. Total proteinin yaklaşık 80 'i kazein (8 'i inorganik maddeler, 92 'si proteindir), 20 'si ise peynir altı suyu proteininden oluşmaktadır (24). Sunulan çalışmada Holstein ırkı ineklerden elde edilen süt total protein düzeyleri (3.5) literatürde bildirilen düzeyler ile uyumludur.

Meme dokusunda sentezlenen laktoz, sütün temel karbonhidratıdır; glukoz ve galaktozdan oluşan bir disakkarittir (25). Meme alveol hücresine kan yolu ile gelen glukoz, UDP-galaktoza izomerize edilir ve dört aşamalı enzimatik bir reaksiyon ile laktoz sentezi gerçekleştirilir (26). Katkısız inek sütü ortalama 5 laktoz içermektedir (27). Süt, az miktarda da glukoz, galaktoz ve oligosakkarit içermektedir (4, 25). Laktoz, Na, K ve Cl gibi iyonlarla birlikte sütün ozmotik basıncını sağlamaktadır; sütün ozmotik basıncı kan ile izoozmotiktir ve ozmotik basıncın düştüğü veya yükseldiği durumlarda laktoz sentez oranı değiştiğinden, laktoz sentezinin kontrol altında tutulduğu düşünülmektedir (26). Holstein ırkı inek sütünde yağsız kuru madde oranları $8.95 - 10.31$ bildirilmekte (28) ve bu bulgular, çalışmada elde edilen bulgular ile uyum göstermektedir. Sütte, yağ dışında kalan kuru maddenin 54 'ünü laktoz oluşturmaktadır (25). Sunulan çalışmada da laktoz düzeyleri ile yağsız kuru madde düzeyleri arasında yüksek pozitif bir korelasyon belirlenmiştir. Çalışmada laktoz ile G6PD ve NADPH düzeyleri arasında belirlenen negatif korelasyonu açıklamak için yeterli literatür bilgiye rastlanılmamıştır. Süt laktozu, süt ozmotik basıncı ve bunu oluşturan unsurların G6PD ile ilişkisi üzerine, ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir

Süt somatik hücreleri, meme dokusundan süte karışan epitel hücreleri ve yangı veya travma durumlarında kandan meme bezine geçen lökositlerden oluşmaktadır (7,29). Sağlıklı bir memedeki süte SHS 150.000-200.000 hücre/mL'den az kabul edilmektedir (30-32). Sunulan çalışmada elde edilen SHS düzeyleri, sağlıklı bir memede kabul edilen süt değerleri ve tüketime sunulan sütlerde bulunması gereken değerler ile uyumlu görülmektedir. Sunulan çalışmada SHS ile pentoz fosfat yolunun hız belirleyici enzimi olan, G6PD aktivitesi arasında yüksek pozitif korelasyon belirlenmiş ve bu bulgular Ritter ve ark. (33)'in bulguları ile uyumlu bulunmuştur.

Pentoz fosfat yolağında G6PD ve 6PGD tarafından üretilen NADPH+H⁺, indirgeyici bir moleküldür ve G6PD eksikliğinde, NADPH+H⁺ düzeyi önemli oranda azalır (34). Sunulan çalışmada, literatür bilgisiyle (33) uyumlu olarak, NADPH düzeyleri ile G6PD aktivitesi arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir. NADPH+H⁺'in eritrositlerdeki en önemli rolünün GSSG'nun rGSH'ya indirgenmesini sağlamak olduğu bildirilse de (35,36), sunulan çalışmada, rGSH düzeyleri ve ayrıca GPx aktivitesi ile NADPH arasında bir bağlantı belirlenmemiştir. Bu durum, süt somatik hücrelerinde, rGSH ve GPx aktivitesinin, başka mekanizmalar ile ilişkili olduğunu, bu parametrelerin, direkt olarak NADPH ve G6PD bağımlı parametreler olmadığını düşündürmektedir; süt somatik hücreleri, kandan süte geçmiş lökositler ve meme bezi epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Lökositlerde fagositik mekanizma ön planda olup süperoksit radikali üretimi fagositik aktivite için önemlidir (37). Süperoksit radikalini üreten enzim, NADPH-oksidad; neredeyse tüm hücrelerde bulunur ve NADPH'ı kullanır (38). Süperoksit radikali, süperoksit dismutaz tarafından H₂O₂'e dönüştürülür. Glutatyon peroksidaz, H₂O₂'i moleküler oksijen ve suya dönüştürdüğünden, süperoksit dismutazdan ve H₂O₂ formasyonundan bağımsız olarak işlev görmez (12). Ayrıca, hücrede rGSH'nın GSSG'ye dönüşümünde GPx'in yanısıra peroksidoksinler (Prdx 6) de görev almaktadır (39). GSSG'den tekrar

rGSH oluşumunda ise GR görev alır; GR, NADPH ve askorbik asiti kullanarak rGSH oluşumunu sağlayabilmektedir (40). Hamster V-79 hücre hattında, kromat tarafından aktivitesi inhibe edilen GR üzerine vitamin C'nin olumlu etkisi bildirilmiştir (41). GSH/GSSG redox çifti ile askorbik asit/dehidro askorbik asit çifti arasında bağlantı bulunmaktadır; rGSH, dehidroaskorbik asiti askorbik asite indirger, diğer yandan bu reaksiyon tersi şekilde de cereyan edebilmekte ve askorbik asit, GSSG'yi rGSH'ya indirgemektedir (42). Malonat ile muamele edilmiş hücrelerde askorbik asit, rGSH'ın azalmasını engellerken, GSSG/GSH oranının düzenlenmesini sağlamıştır (43).

Çalışmada, NADPH ile SHS arasında belirlenen pozitif korelasyon da, G6PD ile SHS arasında belirlenen korelasyonu desteklemektedir.

Sonuç olarak, sunulan çalışma ile süt SHS ile G6PD aktivitesi ve NADPH düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar belirlenmiştir. Ayrıca, sağlıklı inek sütünde süt verimi ve süt kalite parametreleri ile G6PD aktivitesi arasında, laktoz düzeyleri dışında, belirgin bir korelasyon belirlenmemiştir. Laktoz ile G6PD aktivitesi arasındaki bu ilişkinin, sütün ozmotik basıncı ile birlikte, detaylı bir şekilde araştırılması önerilmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Gürsoy A., 2015. Süt teknolojisi ve süt biyokimyası. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara, Türkiye.
2. Suriyasathaporn W., Vinitketkumnuen U., Chewonarin T., Boonyayatra S., Kreasukon K., Schukkenc YH., 2006. Higher somatic cell counts resulted in higher malondialdehyde concentrations in raw cows' milk. *Int Dairy J*, 16, 1088-1091.
3. Taghdiri M., Karim Guiti., Safi S., Foroushani AR., Motalebi A., 2018. Study on the accuracy of milk amyloid A test and other diagnostic methods for

- identification of milk quality. *Vet Res Forum*, 9, 179-185.
4. Li L., Liu X., Guo H., 2018. The nutritional ingredients and antioxidant activity of donkey milk and donkey milk powder. *Food Sci Biotechnol*, 27, 393-400.
 5. Hanus O., Samkova E., Krizova L., Hasonova L., Kala R., 2018. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability-a review. *Molecules*, 4, 23.
 6. Demirci M., 2011. Laktozun insan beslenmesindeki önemi. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg*, 15, 109-116.
 7. Alhussien MN., Dang AK., 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Vet World*, 11, 562-577.
 8. Andrei S., Matei S., Rugina D., Bogdan L., C. Ştefanut C., 2016. Interrelationships between the content of oxidative markers, antioxidative status, and somatic cell count in cow's milk. *Czech J Anim Sci*, 61, 407-413.
 9. Persigo MG., Viglietto G., Martini G., 1986. Isolation of human glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) cDNA clones, primary structure of the protein and unusual 5 noncoding region. *Nucleic Acids Res*, 14, 2511-2522.
 10. Rovira A., De Angioletti M., Camacho-Vanegas O., 2000. Stable in vivo expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and rescue of G6PD deficiency in stem cells by gene transfer. *Blood*, 96, 4111-4117.
 11. Ramos VA., Ramos PA., Dominguez MC., 2000. The role of oxidative stress in inflammation in patients with juvenil rheumatoid arthritis. *J Pediatr*, 76, 125-132.
 12. Akkuş İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimosa Yayınları*, Konya, Türkiye.
 13. Beutler E., 1994. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood*, 84, 3613-3636.
 14. Akalin PP., Bucak MN., Gungor S., Baspınar N., Cayan K., Ili P., Dursun S., Aksoy A., Karasor ÖF., Bilgili A., Sariözkan S., Yeni D., 2016. Influence of lycopene and cysteamine on sperm and oxidative stress parameters during liquid storage of ram semen at 5 °C. *Small Rum Res*, 137, 117-123.
 15. Ellman G., 1959. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82, 70-77.
 16. Beutler E., 1984. Red Cell Metabolism, Manual of Biochemical Methods, 3rd Ed., 3, 257-363, Grune Stratton, Inc., Orlando.
 17. Bradford MM., 1976. A rapid and sensitive method quantitation or microgram quantities of protcin utilizing the principle of protein die binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
 18. Kandeel SA., Megahed AA., Ebeid MH., Constable PD., 2019. Ability of milk pH to predict subclinical mastitis and intramammary infection in quarters from lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*, 102, 1417-1427.
 19. Kandeel SA., Megahed AA., Ebeid MH., Constable PD., 2019. Evaluation of 3 esterase tests for the diagnosis of subclinical mastitis at dry-off and freshening in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 102, 1402-1416.
 20. Weiss WPJ., Hogan S., Smith KL., 2004. Changes in vitamin C concentrations in plasma and milk from dairy cows after an intramammary infusion of *Escherichia coli*. *J Dairy Sci*, 87, 32-37.
 21. Pang M., Xie X., Bao H., Sun L., He T., Zhao H., Zhou Y., Zhang L., Zhang H., Wei R., Xie K., Wang R., 2018. Insights into the bovine milk microbiota in dairy farms with different incidence rates of subclinical mastitis. *Front Microbiol*, 9, 1-13.
 22. Erişir M., Kandemir FM., Yüksel M., 2011. The effect of subclinical mastitis on MDA, GSH levels and GSH-Px, CAT activities in milk of cows. *Firat Uni Sagl Bil Vet Derg*, 25, 67-70.
 23. Szczubial M., Dabrowski R., Kankofer M., Komar MM., 2012. Concentration of serum amyloid A and ceruloplasmin activity in milk from cows with subclinical mastitis caused by different

- pathogens. *Pol J Vet Sci*, 15, 291-296.
24. Fox PF., McSweeney PLH., 2003. *Advanced Dairy Chemistry*. Vol 1, In Chapter 1: Milk Proteins: General and Historical Aspects, Third Edition, Part A, Springer Verlag Publish, New York.
 25. Gehardt SE., Thomas RG., 2006. *Nutritive Value of Foods*, United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service, Home and Garden Bulletin, 72.
 26. Fox PF., McSweeney PLH., 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, Blackie Academic & Professional, an imprint of Chapman & Hall, London.
 27. Heine RG., AlRefaee F., Bachina P., De Leon JC., Geng L., Gong S., Madrazo JA., Ngamphaiboon J., Ong C., Rogacion JM., 2017. Lactose intolerance and gastrointestinal cow's milk allergy in infants and children- common misconceptions revisited. *World Allergy Organ J*, 10,41.
 28. Kasımoğlu A., Akgün S., 1998. Laktasyon periyodu boyunca inek sütünün miktar ve bazı bileşimlerinde görülen değişimler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 295-304.
 29. Sharma N., Maiti SK., Sharma KK., 2007. Prevalence, etiology and antibiogram of microorganisms associated with Sub-clinical mastitis in buffaloes in Durg Chhattisgarh State (India). *Int J Dairy Sci*, 2, 145-151.
 30. Baştan A., Kaymaz M., Fındık M., Erünel N., 1997. İneklerde subklinik mastitislerin elektriksel iletkenlik, somatik hücre sayısı ve California mastitis test ile saptanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 44, 1-6.
 31. Alaçam E., 1998. Meme Hastalıkları. *Siğır Hastalıkları*. Ed: E Alaçam, M Şahal, 389-425, Medisan yayınları, Ankara, Türkiye.
 32. Baştan A., 2010. Düve mastitisleri ineklerde meme sağlığı ve sorunları. *Kardelen Ofset Matbaacılık*, Ankara, Türkiye. 28-231.
 33. Ritter C., Conti A., Morse GE., 1977. Hexose shunt dehydrogenase activity in leukocytes isolated from bovine milk. *J Dairy Sci*, 60, 1987-1990.
 34. Krebs HA., Eggleston LV., 1978. The regulation of the pentose phosphate cycle in rat liver. In: *Adv enzyme regul.* Ed: G Weber, 12: 421-33, Pergamon Press Ltd, Oxford.
 35. Reuter R., Naumann M., Metz P., Kopperschlager G., 1990. Purification and characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Pseudomonas W6*, *Biomed Biochem Acta*, 7, 539-546.
 36. Keha E., Kührevioğlu Ö., 1997. *Biyokimya*. Şafak Yayınevi, Erzurum, Türkiye.
 37. Forman HJ., Thomas MJ., 1986. Oxidant production and bactericidal activity of phagocytes. *Annu Rev Physiol*, 48, 669-680.
 38. Vignais PV., 2002. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci*, 59, 1428-1459.
 39. Ralat LA., Manevich Y., Fisher AB., Colman RF., 2006. Direct evidence for the formation of a complex between 1-cysteine peroxiredoxin and glutathione S-transferase pi with activity changes in both enzymes. *Biochem*, 45, 360-372.
 40. Carlberg I., Mannervik B., 1985. Glutathione reductase. *Meth Enzymol*, 113, 485-490.
 41. Sugiyama M., Tsuzuki K., Ogura R., 1991. Effect of ascorbic acid on DNA damage, cytotoxicity, glutathione reductase, and formation of paramagnetic chromium in Chinese Hamster V-79 Cells treated with sodium chromate (VI). *J Biol Chem*, 266, 3383-3366.
 42. Foyer CH., Halliwell B., 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133, 21-25.
 43. Ehrhart J., Zeevalk GD., 2003. Cooperative interaction between ascorbate and glutathione during mitochondrial impairment in mesencephalic cultures. *J Neurochem*, 86, 1487-1497.



Sınırlı Fleckvieh Irkı Bir Sığır Popülasyonunda Saha Şartlarına Yönelik Dışkı Skorlaması

Deniz ALIÇ URAL^{1a}, Kerem URAL^{2b}, Hasan ERDOĞAN^{2c}, Songül ERDOĞAN^{2d}, Serdar PAŞA^{2e},
Mehmet GÜLTEKİN^{2f}, Elif TÜRK^{2g✉}, Serhan AYDIN^{3h}

1. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fakülte Çiftliği, Işıkli, Aydın, TÜRKİYE.

2. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç hastalıkları Anabilim Dalı, Işıkli, Aydın, TÜRKİYE.

3. Serbest Klinisyen, Tire, İzmir, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0002-2659-3495^a, 0000-0003-1867-714X^b, 0000-0001-8109-8537^c, 0000-0002-7833-5519^d, 0000-0003-4957-9263^e, 0000-0002-5197-2403^f, 0000-0001-9421-8630^g, 0000-0001-9560-6889^h

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
05.12.2018	20.06.2019	25.12.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Aliç Ural D, Ural K, Erdoğan H, Erdogan S, Paşa S, Gültekin M, Türk E, Aydın S: Sınırlı Fleckvieh Irkı Bir Sığır Popülasyonunda Saha Şartlarına Yönelik Dışkı Skorlaması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 201-208, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.492776

Öz: Süt verimine yönelik yetiştirilen ineklerde dışkının karakteri ile kıvamı, sindirim sağlığı ve beslenme programlarının etkinliğinin değerlendirilmesinin yanı sıra hastalıkların takibinde kullanılabilir. Sütçü işletmelerde yem değişiklikleri yapılırken dışkıda meydana gelen değişimleri rehber olarak kullanılmaktadır. Taze ve işlem görmeyen dışkı kümeleri beslenme ile ilişkili değerli ipuçları vermektedir. Bu çalışmada İzmir Tire ilçesi Damızlık Birliğine ait özel 50 başlık bir Fleckvieh çiftliğinde bulunan laktasyonun farklı dönemlerindeki ineklerde dışkı skorlarına ait veriler değerlendirildi. Bu amaçla önceden tanımlanmış 1 ile 5 puan arası dışkı skorlama (değerlendirme) skalası kullanıldı. Dışkı skorlamaları aynı araştırmacı tarafından gerçekleştirildi. İşletmede bulunan hayvanlar laktasyon dönemlerine göre 4 farklı gruba ayrılarak belirtilen karşılaştırmalar yapıldı. Farklı laktasyon dönemindeki Fleckvieh popülasyonunda dışkı skorlarının dağılımı irdelendiğinde erken ve geç laktasyon dönemleri arasında ($P<0.05$), ilaveten geç laktasyon dönemi ile yakın kuru dönemler arasında ($P<0.05$) belirgin farklar belirlendi. Sonuç olarak laktasyonun farklı dönemlerinde sağlık durumunun takibinde dışkı skorlarının belirlenmesinin önemli olduğu, muhtemelen de bağırsak biyo çeşitliliğine yönelik araştırmalara yön verebileceği söylenebilir. Dışkı skorlarındaki farklılıklara göre bağırsak mikrobiyatasındaki değişikliklerin değerlendirildiği ileride yapılacak olan araştırmalara ışık tutacak sonuçlara ulaşıldı.

Anahtar Kelimeler: Dışkı skorlama, Laktasyon, Süt sığırları.

Fecal Scoring Protocol on Field Conditions in the Limited Fleckvieh Breed Population

Abstract: Dairy cattle fecal characteristics and consistency has been used for evaluating of digestive health and feeding programs along with following of disease. Livestock managers use the changes in the stool as a guide when making feed changes. Fresh and untreated stool clumps give clues related to nutrition. In the present study, fecal score results of cattle at different lactation periods, Fleckvieh farms included 50 cattle located in İzmir, Tire Province were surveyed. For this purpose, 1 to 5 points pre-defined fecal scoring scales were used. Fecal scores were detected by the same researcher. The animals in the farm were divided into 4 different groups according to the lactation periods and comparisons were made. Fecal scores distribution of the Fleckvieh cattle between the early and late lactation periods ($P<0.05$), with late and dry lactation periods ($P<0.05$) were found significantly different. In conclusion, it might be stated that determined of fecal scoring at different lactation periods to following health status may be important and may lead to future researchs related to probably intestinal biodiversity. According to the differences in fecal scores, reached results will shed light on future research estimating changes in intestinal microbiology.

Keywords: Dairy cattle, Fecal scoring, Lactation.

✉ Elif Türk

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Işıkli, Aydın, TÜRKİYE.
e-posta: elifturk4848@hotmail.com

GİRİŞ

Ruminantlarda saha koşullarında özellikle de çiftliklerde dışkının değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Sütçü işletme yöneticileri yem değişiklikleri yaparlarken dışkıda meydana gelen değişiklikleri rehber olarak izlerler. Taze, işlem görmemiş dışkı yığınları, ineğin beslenme durumu hakkında değerli ipuçları sağlayabilir (1,2).

Dışkının karakteri ve kıvamı, süt veren sığırlarda sindirim sağlığını ve beslenme programlarının etkinliğini değerlendirmek için bir araç olarak kullanılmaktadır. Rumenin seçici olarak parçacıkları tutmaması, potansiyel olarak sindirilebilir yem parçacıklarının ince ve kalın bağırsağa geçmesine ve sonuç olarak dışkıda sulu ve köpüklü bir kıvama neden olabilir. Tam aksine sert karakterde dışkı, kalın bağırsak fermentasyonun daha az olduğunu ve rasyonda proteinin yetersiz olduğunu gösterebilir (2). Önceki bir çalışmada, sıvı dışkı oranının düşük lifli rasyona sahip ineklerde, yüksek lifli rasyon ile beslenen ineklere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (1). Anılan çalışma rasyonun kimyasal kompozisyonunda lifi temel alarak değerlendirmekte, ek olarak ABD'de süt sığırlarının sindirim fizyolojisini değerlendirmek için nesnel bir araç olarak fekal skorlama yöntemini öneren dönemin tek bilimsel çalışmasıdır. İsveç'te yapılan bir araştırmada (3), rasyonda NDF'nin konsantrasyonunun artması yem alımının artmasını sağlamış, dışkıda NDF konsantrasyonu ve dışkı kıvamını artırmıştır. Ancak, bir total karışım rasyonunun (TMR) partikül büyüklüğü ile belirli bir rasyona sahip olan ineklerin dışkı özellikleri arasındaki muhtemel ilişkiyi irdeleyen deneysel veriler bulunmamaktadır. Anılan tez çalışmasında kaba partiküllerin (> 19 mm) oranının değişmesinin fekal skorlar üzerine etkinliği değerlendirilmiştir (4). Bunun yanı sıra dışkı karakteriyle değerlendirmeye alınan metabolik asidozise yönelik yapılan çalışmalar incelendiğinde dışkının indirekt bir belirteç olarak hastalık tanısında kullanılabileceği belirtilmektedir (5,6). Diğer taraftan rasyona muamele edilen maddelerin sindirilebilirlik

üzerindeki etkinliğinin ortaya konulmasında da dışkı skorlaması belirteç olarak takip edilebilmektedir (7).

Dışkı değerlendirmesinin üç farklı yönü ele alınmalıdır.

1) Dışkının yıkanması: Bir miktar taze dışkı alınır ve sindirim materyali elek vasıtasıyla uzaklaştırılarak ılık su ile yıkanır. Bu işlem yaklaşık 30 saniye sürer. Aşağıda kalan dışkı partikülleri incelenir. Arpa parçaları veya mısır tanesi ile beyaz nişasta bulunması bazı yemlerin yeterince sindirilemediğini gösterir. Tohum ve nişasta parçaları sert ise, nişastayı, rumen mikrobiyal fermentasyonuna veya bağırsak enzimatik sindirime maruz bırakmak için ek öğütme ve işleme işlemleri gerekebilir (8).

Mısır silajı ile beslenen hayvanların dışkılarında mısır tanelerinin görülmesi sindirimin zor olduğunu ve inek tarafından sindirilmeden atıldığını göstermektedir. Olgun ve kuru mısır silajı, tahıllar sert olduğu için bu gözlemlere neden olabilir. Dışkıda 1,27 cm uzunluğundan kısa yem parçalarının bulunması rumen içeriği korumak ve yeterli çiğneme işlemi sürdürmek için uzun yem parçacıklarının eksikliğini yansıtabilir. Yüksek geçiş oranı, rumende yemini düzgün bir şekilde sindirmek için gereken süreyi azaltır (9).

Dışkıda aşırı miktarda mukusun varlığı, bağırsak dokularının kronik iltihaplanması veya yaralanmasını gösteren müsin döküntüleri de içerebilir. Bunlar kalın bağırsak fermentasyonu ve düşük pH'ın neden olduğu kalın bağırsakta hasara işaret eder. Köpüklü veya kabarcıklı görünen gübre, laktik asidozu veya gaz üretimi ile sonuçlanan kalın bağırsaktaki aşırı fermantasyonu gösterebilir (9,10).

2) Dışkı skorlaması: Ruminantlarda dışkı skorlaması için Michigan'daki araştırmacılar tarafından puanlama sistemi geliştirilmiştir. Dışkının kıvam, su ve lif içeriği, yem tipi ve geçiş oranına bağlı olan bu skorlama 1-5 puan arasında değişmektedir. En uygun skor 3 olarak belirlenmiştir (8).

Sindirilebilir, çözünebilir veya toplam protein miktarını arttırmak; lif miktarını veya fiziksel formunu

düşürmek, nişasta seviyesinin arttırılması, tanecik büyüklüğünün azaltılması (ince öğütme veya buharla dökülme gibi) ve fazla minerallerin (özellikle potasyum ve sodyum) tüketilmesi dışkı skorlarının azalmasına neden olabilir (örneğin 3'den 2'ye kadar) (8).

Subakut ruminal asidoz (SARA), sürü fertleri arasında değişmeyen dışkı kıvamına ve aynı zamanda bu hastalığın şekillendiği her bir inekte zaman içinde diğer dışkıda birçok değişikliğe neden olabilir (9). Geçiş dönemindeki ineklerde serotonin infüzyonunun hipokalsemi üzerine olan etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada gastrointestinal motilitedeki artışa bağlı dışkı kıvamının azaldığı görülmektedir (11).

3) Dışkı Rengi: Dışkı rengi yem, safra miktarı ve geçiş oranından etkilenir. Merada otlayan inekler koyu yeşil iken saman bazlı rasyonlar daha kahverengi renge neden olabilir. İnekler TMR tükettiğinde, dışkı genellikle sarı zeytin rengindedir. Bu renk, tahıl ve yem kombinasyonundan kaynaklanır ve tane miktarına ve bu tanenin işlenmesine göre değişir. Yüksek tahıl bazlı diyetler daha gri gibidir. Daha yavaş geçiş oranları, rengin koyulaşmasına ve mukus kaplamasından dolayı yüzeyde bir parlaklık ile daha fazla top şeklinin oluşmasına neden olur. Tedavi gören hayvanlarda uygulanan ilaçların sonucu olarak anormal renkli dışkı görülebilir. Koyu veya kanlı dışkı, mide bağırsak kanalında sulu dizanteri, mikotoksinler veya koksidiyozdan kanamaya işaret edebilir. Açık yeşil veya sarımsı dışkı sulu ishal ile birlikte salmonella gibi bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklanabilir. Dışkı renklerindeki herhangi bir değişim, bir şeyin doğru olmadığını ve acil düzeltici önlemlerin alınması gerektiğini gösterir (8).

Bu çalışmada İzmir Tire ilçesi Damızlık Birliğine ait özel 50 başlık Fleikviech sürüsünü barındıran bir çiftlikte saha şartlarında multidisipliner bir bilimsel organizasyon dahilinde dışkı skorlarının değerlendirilmesi amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Popülasyonu

Çalışma kapsamına alınan çiftlik İzmir Tire ilçesi Damızlık Birliğine üye olan özel 50 başlık Fleikviech sürüsünü barındıran şartlardaydı. Fleikviech ırkı sığırlar iki ile dördüncü laktasyon sayısına sahip 3-8 yaşlarında bulunan ve çalışma esnasında laktasyonda bulunan hayvanlardan seçildi. Çalışma kapsamında değerlendirilen hayvanların herhangi bir hastalık tablosunun bulunmadığı anamnez bilgileri ve rutin klinik muayeneler aracılığı ile belirlendi.

Fekal Skorlama

Fekal skorlama işlemi 1 ile 5 puan arası olacak şekilde Mendelez ve Roy (4) tarafından önceden belirtilen skorlama sisteminden modifiye edilerek düzenlendi. Bu kapsamda hayvanlar sayım sonrasında yem yeme amaçlı olarak makas sisteminde bekletildiği aralıkta aynı araştırmacı tarafından dışkılama yapmaları beklenecek ahır zemini üzerine düşen dışkının görsel olarak değerlendirilmesi ile gerçekleştirildi. Modifiye edilen fekal skorlama kriterleri Tablo 1' de özetlendi. Fekal skorları hayvanların kulak numaralarına göre laktasyon dönemleri öğrenilmeden kör olarak değerlendirildikten sonra işletmeden bulunan hayvan takip programı aracılığı ile hayvanlar laktasyon dönemlerine göre gruplar içerisine sahip oldukları fekal skorlar ile birlikte aktarıldı.

Tablo 1. İneklerde 1-5 puan arasında dışkı skora kriterleri (4).**Table 1.** Fecal scoring criteria with 1-5 points in cattle (4).

Skor	Açıklama
Skor 1	Bu dışkı yeşil sıvı kıvamındadır. Rektal ve sağrı bölgesinde dışkı kalıntıları görülebilir. Aşırı protein veya nişasta, çok fazla mineral veya lif eksikliği bu skora yol açabilir. Kolondaki aşırı üre, dışkıda osmotik basınçta yükselmeye yol açar böylece su çekmeye bağlı ishaller şekillenebilir.
Skor 2	Bu dışkı sulu görünümde ve ayrı bir yığın oluşturmadığı için toprağa ya da betona çarptığında, sulu kıvamından dolayı etrafa saçılır. Çoğunlukla yeşil merada otlayan ineklerde görülür. Düşük lif veya fonksiyonel lif eksikliği de bu dışkı skoruna yol açabilir.
Skor 3	Bu en uygun skor! Dışkı, pürüzlü benzeri bir görünüme sahiptir, 3 ile 5 cm kadar yığılır, birkaç eş merkezli halka, ortada küçük bir çöküntü veya çukur vardır, beton zeminlere çarpar ve bir cup sesi çıkarır ve ayakkabınızın ucuna yapışacaktır.
Skor 4	Dışkı daha kalındır, ayakkabınıza yapışacak ve 5 cm fazla istiflenecektir. Kurudaki inekler ve genç inekler bu tür dışkıya sahip olabilir (bu, düşük kaliteli yemlerin beslendiğini ve / veya protein sıkıntısı olduğunu yansıtabilir). Rasyona daha fazla tane yem veya protein kaynağı eklemek bu dışkı skorunu düşürebilir.
Skor 5	Bu dışkı sağlam dışkı topları olarak görünür. Saman bazlı bir rasyon veya dehidratasyonun bu skora yol açtığı düşünülebilir. İndigesyon problemlili inekler bu skoru gösterebilir.

İstatistiksel Analiz

Laktasyonun farklı dönemlere ait hayvanlarda bulunan dışkılarından yapılan dışkı skorlarına ait veriler Graphpad prism 6.0 programı kullanılarak grafik şeklinde tanımlandı. Laktasyon gruplarındaki skorlar arasındaki farkın istatistiksel değerlendirmesi Kruskal Wallis testi kullanılarak SPSS 22.0 (IBM, Amerika) programı ile yapıldı. İstatistiksel analizlerde $P < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan olgulara ait klinik görünüm (Şekil 1) ve dışkı skora örnekleri Şekil 2-7 arasında gösterildi.

Şekil 3'de belirtildiği gibi sol baştan ilk 3 olguda dışkı skorları 2 iken, en sağdaki olguda skor 3'e yakın bulundu.



Şekil 1. İzmir, Tire İlçesine bağlı 50 başlıklı Fleckvieh popülasyonunun a) dıştan görünümü b) morfolojik muayene öncesi hazırlık ve inspeksiyon.

Figure 1. a) Outward view b) preparation before morphological examination and inspection of farm included 50 head of Fleckvieh cattle located in Tire, İzmir Province.



Şekil 2. Dışkı skoru 4 olan olgu.
Figure 2. Case with fecal score 4.



Şekil 3. Sol baştan ilk 3 olguda dışkı skorları 2 ve en sağdaki olguda skor 3'e yakın. Her 3 olguda diareyik kıvamda dışkı görüntüsü.

Figure 3. The fecal score was 2 at the first 3 cases from the left, and close to the 3 at the rightmost case. Diarrheic appearance in all cases.



Şekil 4. Dışkı skoru 4 olan olgular. Dışkı daha kalın ve çizmeye yapışarak, istiflenmekte.

Figure 4. Cases with fecal score 4. The feces is thicker and sticks to boots.



Şekil 5. Etraftaki diğer hayvan dışkıları ile karışmış olan olguda merkezi yerleşimli dışkı skoru 1 ile uyumlu, anal bölge diareyik dışkı ile bulaşık.

Figure 5. Feces in the center surround with other animal feces is coherent with fecal score 1 and anal region is adhered with diarrheic feces.



Şekil 6. Dışkı skoru 5. Bu dışkı sağlam dışkı topları olarak görünür.

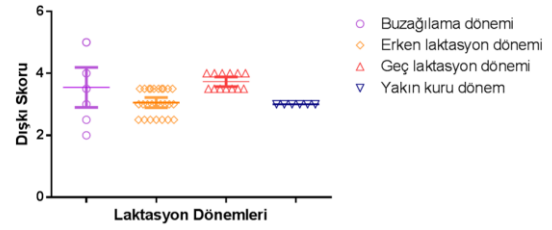
Figure 6. Fecal score 5. This feces appears as solid stool balls.



Şekil 7. İdeal skor 3 saptanan Fleikvieh inekte (buz ağılama sonrası) net olmasa da gastrointestinal sistemin etkin çalıştığına delalet (bağırsak mikrobiyotasında biyoçeşitliliği iyi olarak öngörülebilecek bir olgu).

Figure 7. The ideal score is 3 of Fleikvieh cows (after parturition), although it is not clear, it is indicated to the gastrointestinal system function is effective (biodiversity of the gut microbiota might be predicted as a good case).

Bu çalışma kapsamına alınan Fleikvieh popülasyonunda doğum döneminde (n=9) 2 ile 4, erken laktasyon döneminde (n=16) 2.5 ile 3.5, geç laktasyon döneminde (n=14) 3 ile 3.5 ve yakın kuru dönemde (n=11) 3 ile 4 arası skor değişimleri gözlemlendi. Farklı laktasyon dönemindeki Fleckvieh popülasyonunda dışkı skorlarının dağılımı irdelendiğinde erken ve geç laktasyon dönemleri arasında ($P<0.05$), ilaveten geç laktasyon dönemi ile yakın kuru dönemler arasında ($P<0.05$) belirgin farklar belirlendi. Farklı laktasyon dönemine ait dışkı skorlarının dağılımı ($P<0.05$) ise Şekil 8'de sunuldu.



Şekil 8. Farklı Laktasyon dönemindeki Fleikvieh popülasyonunda dışkı skorlarının dağılımı.

Figure 8. Distribution of fecal scores in the Fleikvieh cattle herd at different lactation periods.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Fekal skorlama sistemi dışkı karakterini tanımlayan ve rasyonun bileşimi ile ilgili olan önemli bir çalışmada geliştirilmiştir (4). Detaylı literatür taraması kapsamında farklı ve az sayıda makalede fekal puanlama sistemlerinin değerlendirildiği görülmüştür. Ancak yeterli miktarda aynı türden bilimsel çalışma eksikliği nedeniyle bu çalışmada kullanılan skorlama sistemini geliştirmek için kriterleri homojenleştirmek zor olmuştur. Konu ile ilişkili bir araştırmada, Perry ve Stallings (1)' in araştırmasından uyarlanan dışkının kıvamı, fiziksel formu ve şeklini temel alındığı şekilde modifiye edilmiştir. İlgili çalışmada ek olarak puanlama sistemi bir ön değerlendirme ile doğrulanmıştır. Başka bir çalışmada aynı çiftlikte birkaç dışkı örneğini ayrı ayrı puanlayarak 0.5'den daha fazla olmayan puanların tutarlı bir şekilde eşleştirilmesi sağlamıştır. Sunulan bu çalışmada, TMR örnekleme ve işleme ve dışkı skorlamanın tamamen aynı kişi tarafından gerçekleştirilmesidir. Böylece dışkı skorlama ve parçacık boyutu değerlendirmesinde değişkenlik azalmaktadır (4).

Dışkı skorunda 1 ve 5 puan arzu edilmez ve rasyon kısıtlamalarının yanı sıra bir sağlık problemini de yansıtabilir. Skor 4, rasyonun yeniden dengelenme ihtiyacını yansıtabilir. İneklerde laktasyonları boyunca, dışkı skorunun değişebileceği [buz ağılama günü (skor 2 ile 2.5); erken laktasyon dönemi (2.5 ile 3); geç laktasyon dönemi (3 ile 3.5); yakın kuru dönem (3-4); uzak kuru dönem (2.5 ile 3.5)] göz önünde bulundurulursa (5); bu çalışma kapsamına

alınan Fleckvieh popülasyonunda doğum döneminde (n=9) 2 ile 4, erken laktasyon döneminde (n=16) 2.5 ile 3.5, geç laktasyon döneminde (n=14) 3 ile 3.5) ve yakın kuru dönemde (n=11) 3 ile 4 arası skor değişimleri gözlemlendi. Farklı Laktasyon dönemindeki Fleckvieh popülasyonunda dışkı skorlarının dağılımı irdelendiğinde erken ve geç laktasyon dönemleri arasında, ilaveten geç laktasyon dönemi ile yakın kuru dönemler arasında belirgin farklar belirlendi. Yapılan bir çalışmada vitamin mineral takviyesi yapılan rasyonla beslenen sürüde kuru dönemden erken laktasyon dönemine doğru dışkı skorlamasının kontrol grubuyla paralel ancak daha yüksek olarak azaldığı ifade edilmiştir (12). Schmitz ve ark., (13)' de yaptıkları çalışmada ise yüksek enerjili rasyonla beslemeye bağlı kuru dönemle kıyaslandığında orta laktasyon dönemine doğru dışkı skorunun azaldığı, bunun da düşük NDF alımıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda rasyon içeriği dikkate alınmaksızın dışkı skorunda erken laktasyon dönemindeki azalmalar benzerlik göstermektedir. Ayrıca Hutjens (8)'in belirttiği gibi çalışmamızda da erken laktasyon dönemindeki ineklerde dışkı skoru 2.5-3 arasında elde edilmiştir.

Şekil 3'de belirtildiği gibi sol baştan ilk 3 olguda dışkı skorları 2 iken, en sağdaki olguda skor 3'e yakın bulundu. İlginç olarak her 3 olguda diaretik kıvamda dışkı saptanırken, görseldeki son olguda diyare gelişmemesi, enfeksiyöz etkenlerin ekarte edilebileceğini düşündürmektedir (Şekil 3). Yine de fekal muayene ile paraziter ya da bakteriyolojik etmenler ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulabilir.

Geliştirilmiş besin kullanımının bir göstergesi olan mısır silajı ile birlikte çim yonca silajı içeren diyetle beslenen ineklerde dışkı skoru artış göstermektedir (14). Mısır silajı ve tam tahıl gevreği silajı, rumende ot silajından daha düşük oranda potansiyel parçalanabilirliğe sahip NDF içerir (1-4,8,9,15-20). Bu, mısır silajı ya da tam-tahıl gevreği silajı ile beslenen ineklerde, sadece çimenlik yonca silajı ile beslenen ineklere ya da preslenmiş pancar posası ile kombinasyon halinde olanlara kıyasla daha yüksek bir dışkıda NDF konsantrasyonu ile

ilişkilendirilmiştir. Toz haline getirilmiş pancar posası, rumende kolayca ayrışabilen çözünür lif fraksiyon pektini (160 g/kg DM) içerir (2,15,17). Yüksek dışkı NDF konsantrasyonunun, mısır silajı ile beslenen ineklerde daha yüksek dışkı kıvamına neden olmaktadır (3). Bu çalışmada rasyon bilgisi tam olarak paylaşımak istenmese de tam tahıl gevreği ve silaj ile beslenen ineklerde dışkı skorlarında meydana gelen değişimin mısır silajına ilişkin olmadığı düşünüldü.

Sonuç olarak laktasyonun farklı dönemlerinde sağlık durumunun takibinde dışkı skorlarının belirlenmesinin önemli olduğu ve ileride mikrobiyotaya, muhtemelen de bağırsak biyoçeşitliliğine yönelik araştırmalara katkıda bulunabileceği söylenebilir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Ireland-Perry RL., Stallings CC., 1993. Fecal consistency as related to dietary composition in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 76, 1074-1082.
2. Lean IJ., Golder HM., Hall MB., 2014. Feeding, evaluating and controlling rumen function. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 30, 539-575.
3. Mgbeahuruike AC., 2007. Fecal characteristics and production of dairy cows in early lactation. MSc Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Skara, Sweden
4. Melendez P., Roy E., 2016. The association between total mixed ration particle size and fecal scores in Holstein lactating dairy cows from Florida, USA. *AJAMA* 11, 33-40.
5. Ortlek O., Erdogan H., Ural DA., Erdogan S., Ural K., 2018. Subakut ruminal asidozisli sığırlarda rumen pH'sı ile dışkı skoru arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. *Vet J Mehmet Akif Ersoy University*, 3, 130-134.
6. Danscher AM., Li S., Andersen PH., Khafipour E., Kristensen NB., Plaizier JC., 2015. Indicators of induced subacute ruminal acidosis (SARA) in

- Danish Holstein cows. *Acta Vet Scan*, 57, 39.
7. Kazemi-Bonchenari M., Salem AZM., Lopez S., 2017. Influence of barley grain particle size and treatment with citric acid on digestibility, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in Holstein calves. *Animal*, 11, 1295-1302.
 8. Flack S., 2016. The art and science of grazing: how grass farmers can create sustainable systems for healthy animals and farm ecosystems. 1th ed., 123-125, Chelsea Green Publishing, UK.
 9. Abdela N., 2016. Sub-acute ruminal acidosis (SARA) and its consequence in dairy cattle: A review of past and recent research at global prospective. *Achiev Life Sci*, 10, 187-196.
 10. Leiber F., Ivemeyer S., Perler E., Krenmayr I., Mayer P., Walkenhorst M., 2015. Determination of faeces particle proportions as a tool for the evaluation of the influence of feeding strategies on fibre digestion in dairy cows. *J Anim Plant Sci*, 25, 153-159.
 11. Weaver SR., Prichard AP., Endres EL., Newhouse SA., Peters TL., Crump PM., Hernandez LL., 2016. Elevation of circulating serotonin improves calcium dynamics in the peripartum dairy cow. *J Endocrinol*, 230, 105-123.
 12. Righi F., Simoni M., Malacarne M., Summer A., Costantini E., Quarantelli A., 2016. Feeding a free choice energetic mineral-vitamin supplement to dry and transition cows: effects on health and early lactation performance. *Large Anim Rev*, 22, 161-170.
 13. Schmitz R., Schnabel K., von Soosten D., Meyer U., Spiekers H., Rehage J., Danicke S., 2018. The effects of energy concentration in roughage and allowance of concentrates on performance, health and energy efficiency of pluriparous dairy cows during early lactation. *Arch Anim Nutr*, 72, 100-120.
 14. Varga GA., 2003. Can manure evaluation diagnose areas for improvement in ration formulation, management and health. In: *Djurhälso och Utfodringskonferens*. 33-36.19-21.
 15. Baath Jacobsson S., 2005. Ruminal degradation profile of fibre in whole crop cereals – effects of plant species, stage of maturity and methodology. Student report 29. Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Environment and Health, Section of Production Systems. Skara, Sweden.
 16. Quirke J., Rath M., Caffrey PJ., O'Mara FP., 2002. Intake, digestibility, milk production and kinetics of digestion and passage for diets based on maize or grass silage fed to late lactation dairy cows. *Livestock Product Sci*, 74, 113-124.
 17. Hartnell GF., Hvelplund T., Weisbjerg MR., 2005. Nutrient digestibility in sheep fed diets containing Roundup Ready or conventional fodder beet, sugar beet and beet pulp. *J Anim Sci*, 83, 400-407.
 18. Mara FP., Coyle JE., Drennan MJ., Young P., Caffrey PJ., 1999. A comparison of digestibility of some concentrate feed ingredients in cattle and sheep. *Anim Feed Sci Tech*, 81, 167-174.
 19. Micard V., Thibault JF., 1999. Oxidative gelation of sugar- beet pectins: use of laccases and hydration properties of cross-linked pectins. *Carbohydr Polym*, 39, 265-273.
 20. Witzig M., Lengowski MB., Zuber KH., Möhring J., Rodehutschord M., 2018. Effects of supplementing corn silage with different nitrogen sources on ruminal fermentation and microbial populations in vitro. *Anaerobe*, 51, 99-109.



A Review on Determination of Computer Aid Diagnosis and/or Risk Factors Using Data Mining Methods in Veterinary Field

Pınar CİHAN^{1a}, Erhan GÖKÇE^{2b}, Oya KALIPSIZ^{3c}

1. Tekirdağ Namık Kemal University, Çorlu Faculty of Engineering, Department of Computer Engineering, Tekirdağ, TURKEY.
 2. Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Kars, TURKEY.
 3. Yıldız Technical University, Faculty of Electrical Electronic, Department of Computer Engineering, Istanbul, TURKEY.
- ORCID: 0000-0001-7958-7251^a, 0000-0003-2674-1010^b, 0000-0001-9553-669X^c

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
21.09.2018	28.03.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Cihan P, Gökçe E, Kalipsiz O: A Review on Determination of Computer Aid Diagnosis and/or Risk Factors Using Data Mining Methods in Veterinary Field. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.,14(2): 209-220, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.462197

Abstract: Data mining is an interdisciplinary field. In this field, statistical analysis techniques and artificial intelligence algorithms are used. Thanks to the algorithms used, hidden information within the data is revealed and transformed into qualified information. Data mining techniques have been used effectively in health, engineering, biomedicine and many other fields for many years, and are known to contribute significantly to health sciences. However, the use of this effective method in animal health is very limited and the use of data mining methods in animal health has accelerated in recent years. Animal illness and mortality cause decrease husbandry and this impact negatively on the national economy. Interdisciplinary studies are very important to increase profitability in this field. In this review, studies on the determination of animal diseases and/or risk factors using data mining methods have been examined. Studies in the veterinary field shows the data mining methods can be successfully applied in this field.

Anahtar Kelimeler: Computer aid diagnosis, Data mining, Veterinary.

Veterinerlik Alanında Veri Madenciliği Yöntemleri Kullanılarak Bilgisayar Destekli Tanı ve/veya Risk Faktörlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir İnceleme

Öz: Veri madenciliği disiplinler arası bir alandır. Bu alanda istatistiksel analiz teknikleri ve yapay zeka algoritmaları kullanılmaktadır. Kullanılan algoritmalar sayesinde verideki gizli bilgiler açığa çıkarılarak ve nitelikli bilgiye dönüştürülmektedir. Veri madenciliği teknikleri sağlık, mühendislik, biyomedikal ve diğer birçok alanda uzun yıllardır etkin bir şekilde kullanılmaktadır ve sağlık bilimine önemli ölçüde katkıda bulunduğu bilinmektedir. Ancak bu etkili yöntemin hayvan sağlığında kullanımı oldukça sınırlı olup son yıllarda hayvan sağlığında veri madenciliği yöntemlerinin kullanımı hızlanmıştır. Hayvan hastalıkları ve ölüm oranları hayvancılığın azalmasına neden olmakta ve bu da ülke ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu alandaki karlılığı artırmak için disiplinler arası çalışmalar çok önemlidir. Bu derlemede, veri madenciliği yöntemlerini kullanarak hayvan hastalıklarının ve / veya risk faktörlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar incelenmiştir. Veterinerlik alanındaki çalışmalar, veri madenciliği yöntemlerinin bu alanda başarıyla uygulanabileceğini göstermektedir.

Keywords: Bilgisayar destekli tanı, Veri madenciliği, Veterinerlik.

✉Pınar Cihan

Tekirdağ Namık Kemal University, Çorlu Faculty of Engineering, Department of Computer Engineering, Tekirdağ, TURKEY.
e-mail: pkaya@nku.edu.tr

INTRODUCTION

Data mining is classified as an interdisciplinary subfield under computer science. It involves discovering patterns through computation in large data sets combining methods used in several disciplines such as machine learning, artificial intelligence, database systems and statistics. The general objective of the data mining process is to reveal hidden predictive information and unknown data, relationships, patterns and knowledge by searching through large data sets where it is hard to search and determine using classical methods of statistics (1–3).

The health organizations generate the data so vast and complex that it is very difficult to analyze the data in order to make important decisions regarding patients' health (4). This huge bulk of data contains details about hospitals, patients, medical claims, treatment costs, etc. Therefore, the generation of a powerful tool to analyze and extract important information from this complex bulk of data is required. In order to increase their capability of making decisions on patients' health, health-care organizations use data mining techniques such as classification, clustering, regression and association.

Data mining methods are being widely used as a supporting system for diagnosis and treatment. However, it is obviously seen that data mining methods are not used sufficiently in animal health. To be more precise, the newly developed scientific solutions are not being implemented when encountering a problem in the field of veterinary. It can be said that interdisciplinary studies are inadequate (5).

Animal health is as important as human health. The data mining methods are being quite newly applied in the field of veterinary. In this review, studies in the field of veterinary will be examined under data mining models (detailed in Section 3). Classification methods were used for factors effecting fertility in Japanese quail eggs (6,7),

evaluation of raw milk quality (8,9), oestrus detection (10,11), estimation of heat stress (12), estimation of milk production efficiency (13), prediction of the nutrient content in dairy manure (14), prediction diagnosis (15). Clustering methods were used for examination of goat in terms of mohair characteristics (16), classification of Holstein Friesian breed dairy cattle in terms of some milk component parameters (17), classifying the cities for sheep production (18), classify sheep according to body measurements (19), risk classification (20,21), determination of factors responsible for animal mortality (22), characterization disease (23).

The aim of this study is to allow obtaining better results in diagnosis and treatment by applying data mining methods in animal health and to introduce a different point of view to the veterinarian in terms of decision-making processes. Therefore, studies towards determination of disease diagnosis and/or risk factors using data mining methods in the field of veterinary were reviewed and the quite recent use of data mining in the field of livestock farming was discussed in detail. Before starting an application associated with data mining, it is crucial to understand the data mining related basic concepts and utilized methods in order to obtain more successful results.

1. Data Mining

Data mining comprises three steps of knowledge discovery in databases (KDD); pre-processing, modeling and post-processing of data (24). The goal of pre-processing is to prepare raw data for mining. The relationships between various data are discovered in the modeling step, in order to extract a pattern. In the post-processing step, the extracted pattern is evaluated in order to be verified and stated as knowledge. For the interactive and iterative KDD process model shown in Figure 1.

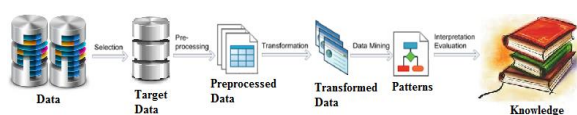


Figure 1. Summarized KDD process steps according to Fayyad, Piatetsky et al. (24,25).

Şekil 1. Fayyad, Piatetsky ve ark. göre KDD işlem adımları özeti (24,25).

1.1. Data Preprocessing

Databases may contain incomplete raw data, noise, missing values, and inconsistent data. Data mining results are affected by the quality of the data. Raw data is preprocessed, to improve the quality of the data and consequently the mining results. This increases efficiency and it eases the mining process. Data preparation and obtaining a general overview of data is aimed at the preprocessing step. In practice, 60%-90% of project time is spent on data understanding and preparation (26). So, the data preprocessing step is very important.

Data cleaning: Data becomes dirty by missing values, noisy and inconsistent data. Within the mining procedure, these dirty data may confuse the process. If some data cells are empty, this means that there are missing values. As a random part of the error, noise should be eliminated. Outlier data are those with different behavior from other data and they are to be detected. Operations such as filling in missing values, identifying or removing outliers, smoothing noisy data and resolving inconsistencies are required, in order to solve these problems. Solution methods are elimination, estimation and ignorance (3).

Data integration: Data integration comprises integration of multiple databases, files or data cubes or in order to create a single data set (3).

Data transformation: Transformation of data into forms to render them appropriate for mining. The methods of data transformation include normalization (scaled to fall within a small, z score normalization, min-max normalization and decimal scaling), smoothing (removing noise from data by binning, regression and clustering), aggregation

(summarization or aggregation may be applied to data) and generalization (concept hierarchy climbing) (3).

Data reduction: This is to obtain a reduced representation of the data set, making it much smaller in volume with the same (or approximately the same) analytical results. In literature, several methods such as data cube aggregation, dimensionality reduction, data compression, numerosity reduction, discretization and concept hierarchy generation were used for data reduction (3).

Discretization and binarization: This comprises the preparation of data for classification and association algorithms. Discretization is the process of transforming a continuous attribute into a categorical attribute. It is commonly used in classification. Through binarization, a continuous or categorical attribute is mapped into one or more binary variables. Generally, it is used for association analysis (27).

1.2. Data Modeling

In the data modeling step, all tasks may be divided into predictive and descriptive categories. Predictive algorithms comprise classification and regression according to the type of target variable (discrete or continuous). Descriptive algorithms are divided into clustering and association rule mining categories (28).

Classification is the estimation of data that does not have a certain class using existing data. Classification algorithms are supervised algorithms and consist of two steps. In the first step the algorithm determines the relationships between the class information and other attributes and it establishes a model to implement it on the whole data. In the second step, this model is operated on unclassified data and the classes of these data are estimated. To measure the success of the generated model of the classification algorithm, specific criteria are used which are accuracy, error rate and sensitivity (1,3,28).

Regression, unlike classification, is used for estimation of continuous data and it is a data analysis method establishing models to indicate important data classes that estimate future data. Each of the models used for estimations is mining functions and they estimate the probable values of classes. (1, 3, 28).

Clustering sorts data into clusters consisting of similar elements and it obtains homogeneous sub-data groups from a heterogeneous data cluster. This process is done completely utilizing the similarity without any learning process (1,3,28).

Association rule mining is used to discover relationships between large transactional data for exploring sequential data. Through this method, analysis of association rules or frequently appearing items is obtained. Various criteria are taken into consideration such as support and confidence through performance evaluation on discovered rules (29).

1.3. Data Post-processing

The extracted knowledge is visualized and evaluated in this step. Visualization is known as the essential matter in data mining. It is considered as an advantage for an algorithm. Various predictive and descriptive algorithms are used to extract knowledge from raw data. Conclusively, the performance evaluation methods comprise single scalar and graphical methods. In the first group, accuracy, sensitivity and specificity are categorized. This group is simple to be practiced but not efficient in covering various aspects of evaluation. The other group comprises Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve, Cost-Line and Lift (1,3).

Data mining reflects a process that comprises several steps, methods and algorithms. In order to generate successful results through the study, methods and algorithms should be selected according to the data set.

2. Literature Review

Automated animal diagnosis helps the veterinary surgeon to calculate the correct disease

with less time. While the articles scanning we selected keywords: “analysis of animal diagnosis”, “predict animal diagnosis using decision tree”, “diagnosis of disease veterinary”, “evaluation of risk factor for animal diseases”, “animal medical data analysis”, “disease decision support animal”, “predict animal diagnosis data mining”, “analysis small ruminant data mining”, “naive bayes in veterinary”, “data mining predict animal disease”, “weka in veterinary”, etc. and their combinations are used. The studies highlight the foremost objectives of the authors working in the field of predicting animal disease(s) and/or determination of risk factors in the veterinary field using data mining methodology.

2.1. Clustering Studies

Hermann-Bank et al. (23), aimed to investigate if the new neonatal porcine diarrhea (NNPD) is associated with the composition of gut microbiota. K-means, principle component analysis (PCA) and linear discriminant analysis (LDA) methods are used. In the conducted study, analyses were performed on a data set consisting of 50 control (without NNPD) and 52 NNPD piglets. According to LDA; 70% of case samples (diarrhea) and 83% of control samples (without diarrhea) were classified correctly. When the microbial composition in neonatal piglets of different ages (three to seven days old) was examined, case and control groups were observed to be better distinguished with age. According to PCA, new neonatal porcine diarrhea (NNPD) was observed to be associated with the bacterial composition and a big variation was observed among diarrhoeic piglets. The study concludes that NNPD indicates that bacteria could be the etiology of this diarrhea which affects piglets during the first week of life.

2.2. Classification/Regression Studies

Yazdanbakhsh et al. (30), aimed to develop an intelligent system for prediction of bovine respiratory diseases in livestock farming. Chi-squared automatic interaction detection (CHAID), logistic regression (LogR) and analysis of variance (ANOVA)

methods were used. The analyses were performed on sensor data in terms of body and environment temperature obtained from sensors attached to cows. At the prediction of disease in cows for the next 7 days logistic regression was observed to have the lowest false-positive rate (sensitivity 42.3%, specificity 92.7%), MetaRBFN1 was observed to have the lowest false-negative rate (sensitivity 92.3%, specificity 63%), and MetaRBFN2 was observed to deliver the nearest point to the optimal classifier within the ROC area (sensitivity 73.1%, specificity 78.8%). The study concluded reporting that the best performance was achieved by the ensemble classifier (the voting method combining MetaRBFN1, MetaRBFN2, and Logistic Regression) with a sensitivity of 80.8% and a specificity of 80%.

Saidani et al. (31), aimed to demonstrate the effect of climate on warble infestation. Radial basis function network (RBFN), support vector machine (SVM), sequential minimal optimization (SMO), decision tree (DT) and LogR methods are used. The prevalence and infestation intensity (38.23%; 21.57±11.98) were found significantly higher than humid areas (20.74%; 14.84±7.86). Through the CHAID algorithm, the main factors were observed as climate followed by the husbandry system and breed. Through logistic regression and multivariate ANOVA, intrinsic factors (age, sex, breed) and extrinsic factors (husbandry system, treatment), as well as climate, were observed to be associated with both prevalence and infestation intensity. The study concludes that semi-arid areas are more favorable than humid ones at the free stages of *Hypoderma* spp. life cycle (pupae and adult flies).

Alwaysheh et al. (32), aimed to develop models about the influence of inflammatory bowel (IBD) and alimentary lymphoma (ALA) diseases on serum chemistry and to distinguish these diseases by means of classification algorithms. Naïve bayes (NB), DT and artificial neural network (ANN) methods are used. The study was conducted on results of complete blood count (CBC) and serum chemistry (SC) of 120 cats consisting of 40 normal cats, 40 cats with IBD and

40 cats with ALA. With sensitivities of 70.8% and 69.2% respectively, naive bayes and artificial neural networks were observed to have a higher performance in comparison to the decision tree with a sensitivity of 62%. By classification according to normal, IBD and ALA status, the area under the ROC curve was observed to be 83% for NB, 79% for DT and 82% for ANN. By classification of cats in 3 categories, NB with 10 variables and ANN with 4 variables have shown a better performance than the decision tree with 5 variables. The study concluded reporting that both NB and ANN provide a good algorithm alternative to create prediction models in this field.

Boujenane et al. (33), aimed to analyze the rate of incidence and risk factors of clinical mastitis. LogR and gamma regression models (GRM) methods are used. The analyses were performed on 1725 Holstein cows. According to logistic regression; the obtained result showed that cows with a parity of 2 had a mastitis risk of 65% and those with parity 3 and 4 had a risk of 88% and 115% respectively and that the risk was higher than the parity 1. The highest mastitis risk was observed in cows that calved from October to January and the highest number of mastitis incidences were observed from July to September. According to gamma regression parameter estimates, the onset time of mastitis 1 and 2 in cows that calved from January to October were 16.3 and 8.5 days, respectively.

Amrine et al. (34), aimed comparison of classification algorithms to predict outcomes of feedlot cattle in Bovine respiratory disease. DT, bayesian network (BN), meta-classifiers, ANN and LogR methods are used. In this study, the analyses were performed on over one million animals. Different classification algorithms in estimating post-treatment results of individual calves based on data obtained from the first diagnosis and treatment of the disease were compared in this study. Classifier performances were observed to range from 63% to 95% according to the dataset. The study concluded reporting that feedlot managers might perform correct predictions by pairing the correct classifier with the available data.

Urbach et al. (35), aimed automated phenotyping and advanced data mining exemplified in rats transgenic for Huntington's disease. Multivariate analysis (MVA), PCA and Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) methods are used. Previously undetected aspects (such as circadian activity, energy metabolism, rearing) were traced for the phenotype of tgHD rats by automated systems and spontaneous free rearing rats correlated with individual performance were also traced in the accelerated test. In juvenile tgHD rats that differed from adult animals, discrimination by genotype was revealed through PCA, it was further resolved through PLS-DA to detect "temperature" (juvenile) and "rearing" (adult) as phenotypic key variables in the tgHD model. In this study, it was also observed that MVA was extremely useful in comparison to PCA in terms of identifying and scoring genotype-related traits in animals' behavior and metabolism. The study has concluded reporting that MVA combined with intra-home-cage phenotyping might characterize a complex phenotype through identifying highly sensitive and standardized novel physiological and behavioral markers while using fewer human resources.

Babcock et al. (22), aimed to assess the ability to predict the cumulative risk of bovine respiratory disease complex (BRDC). LogR and mixed negative binomial regression (MNBR) methods are used. In this study, for model training 12735, for validation 6221 and for testing 6476 cohort data set were used. Subset 1 (feedlots that reported risk code) and subset 2 (feedlots that reported daily mortality counts) were generated from the data set. Using logistic regression models, correctly classified cohort percentage per day was illustrated, then arrival weight, arrival month, and feedlot were used to evaluate the effect of day. Cattle arriving in April had the highest (77%) number of lots which were correctly classified and cattle arriving in December had the lowest one (28%). At the arrival, classification accuracy varied according to initial weight and ranged from 17% (<182 kg) to 91% (> 409 kg). When risk code was

known, predictive accuracy has improved from 64% to 74% in 8 days from arrival and when risk classification was unknown the accuracy at arrival was 56% and 69% at 8 days on feed. The study concluded demonstrating the improvement in the predictive ability of models utilizing more refined data on the cohorts' history. So, these models become more useful for commercial feedlot operators.

Ahmed et al. (36), aimed to determine the influence of epidemiological factors on prevalence and infestation rate of *Hypoderma* spp. CHAID and ANOVA methods are used. A total of 1000 animals were analyzed and the influence of age, sex, breed, management and previous exposure factors on hypodermosis were investigated. In the study, the prevalence was shown to be higher in young and female animals. The management was found to be the most important factor in warble fly infection and it was observed that warbles were first detected in September reaching a maximum in December and disappearing in January. According to CHAID algorithm, the most effective factor in warble fly prevalence was the grazing pattern followed by district locality. Along with significantly effective factors such as previous exposure to parasite, parasitism intensity, the management system was reported to be another factor in hypodermosis prevalence.

Piwczynski et al. (39), aimed to determine risk factors responsible for lamb mortality. Classification trees (CT) and LogR methods are used. The analyses were performed on 20,044 lambs. At the study, factors such as flock, year of lambing, age of dams at lambing, body weight of dams at the age of 12 months, birth type of lambs were observed to be effective on lamb mortality at both logistic regression and classification tree methods. At the conclusion, the study reported that classification tree would be more advantageous than logistic regression by presenting the information in the form of a tree structure making it more understandable in a straightforward way.

Geenen et al. (38), aimed to discriminate between classical swine fever (CSF)-infected and non-infected pig herds. NB method is used. The analyses were performed on 245 CSF-negative herds and 245 CSF-positive herds. Naive Bayesian classifier's accuracy was observed to be 69% when all features were applied, the classifier's accuracy was observed to be 67% after the filter method was applied, the classifier's accuracy was observed to be 70% after the wrapper method was applied. Because the obtained results had a better performance than that of a previously published diagnostic rule (63%), the study reported that the NB classifier was a promising tool in modeling diagnostic problems.

Lopez et al. (39), aimed to detect and classify determinant factors on sheep protostrongylid infection. CHAID and general linear model (GLM) methods are used. The analyses were performed on 93 fecal samples collected from 74 commercial meat ovine flocks. CHAID method was used to evaluate the risk factors in sheep on being infected by lungworms and the GLM method was used for evaluating infection intensity. While *Dictyocaulus filaria* infection was the principal factor on protostrongylid prevalence, other factors were observed to be age, introducing external animals in the flocks, mixed management with goats and animal density in pastures. In addition, treatment effects on prevalence were only observed in flocks that did not introduce ewes. The lowest protostrongylid prevalence was observed in flocks without *D. Filaria* infection and when contact with goats was avoided.

Kuncheva et al. (15), aimed to reduce the false positive rate within the set of suspects. 18 classification methods (Bagging, AdaBoost, Random Forest, etc.) are used. The analyses were performed on a data set consisting of 3113 sheep. 14 clinical signs such as abnormal head position, change of temperament, nibbling biting and poor condition were recorded by veterinary officials for each animal and post-mortem diagnosis was performed. Then 18 different classification methods were used to identify healthy animals according to only clinical signs. The

study reported that classifier ensembles performed lower than expected, while logistic classifier, NB and linear classifier models gave better results.

Dawson et al. (40), aimed to characterize the cytology of bronchoalveolar fluid. DT method is used. The analyses were performed on bronchoalveolar lavage fluid (BAL) collected from 113 sheep lungs consisting of 44 normal lungs, 12 lungs with maedi, 9 with adenomatosis, 27 parasitic, and 21 pneumonic lungs. According to the study, the basic problem in taking clinical decisions was reported to be whether the cytological analysis of the BAL fluid could diagnose lung diseases in sheep. Therefore, the decision tree method was used to interpret the differential cytology of the BAL fluid. According to the decision tree; it was observed that 30% of cases with cytological profiles suggesting no disease might have lung lesions which means there was a remarkable coincidence between normal BAL profiles and disease-related profiles. 37% of BAL profiles suggesting parasitism could be derived from lungs with no evidence of parasitism, but in sheep with a maedi suggesting profile only 10 percent would be misclassified. 57% of sheep profiles suggesting adenomatosis will be derived from lungs with other pathologies. Therefore, any predictions made on the basis of the differential cytology of BAL fluid are subject to considerable uncertainty.

Sandholm et al. (41), aimed to compare classifier induction algorithms on the diagnosis of equine colic and the prediction of its mortality. Linear regression (LinR), DT, K-nearest neighbors (KNN) and LogR methods are used. The study reported that the diagnosis of the disease was easy for all methods and the average accuracy of the methods differed between 94.7% and 99.3%. Small differences were observed between the accuracies of the methods and logistic regression and neural networks methods had the highest accuracies. The study reported that mortality prediction was difficult for all methods and the average accuracy differed between 62% and 72%. Neural networks and model class selection methods were observed to have the highest accuracy. In

addition, reducing the number of features was reported to lower the accuracy of logistic regression and disease classification, while increasing mortality prediction from 65% to 73%.

Table 1 presents the comparative analysis of different data mining techniques and algorithms which have been used in examined studies.

Table 1. Comparison of used data mining techniques.

Tablo 1. Kullanılan veri madenciliği tekniklerinin karşılaştırılması.

Author	Tool	Disease	Data Size	Data Mining Techniques								Successful method
				Classification/Regression						Clustering		
				DT	ANN	Bayesian	SVM	KNN	Other	Partition	Hierarchical	
Yazdanbakhsh et al. (30)	Weka, Matlab	Bovine Respiratory	31	√			√			RBFN, LogR		RBFN
Saidani et al. (31)	R, SPSS	Hypodermosis epid.	1.635	√						LogR, Anova		-
Awaysheh et al. (32)	Weka	IBD and ALA	120	√	√	√						DT
Bank et al. (23)	R	Bacterial gut	102								√	-
Boujenane et al. (33)	SAS	Mastitis	1.725							LogR		-
Amrine et al. (34)	Weka	Bovine respiratory	468.734	√	√	√				RF, MB, LB, FC, DS, VP		-
Urbach et al. (35)	Phe-noMaster	Transgenic Huntington's	12							MVA, PCA, PLS-DA		PCA
Babcock et al. (22)	Stata	Bovine Respiratory	25.432							LogR, MNBR		MNBR
Ahmed et al. (36)	SPSS	Hypoderma spp.	1.000	√						Anova		DT
Piwczyński et al. (39)	Enterprise Miner	-	20.044	√						LogR		DT
Geenen et al. (38)	Dazzle	Swine fever	490			√						NB
López et al. (39)	SPSS	Protostrongylid infection	2.093	√						GLM		
Kuncheva et al. (15)	Weka	Scrapie	3.113	√		√	√	√		Bagging, RF, adaBoost etc.		NB
Dawson et al. (40)	Minitab	Lung diseases	113	√								DT
Sandholm et al. (41)	-	Gastrointestinal colic	105	√	√			√		LinR, LogR		ANN

ALA = Alimentary Lymphoma, ANN = Artificial Neural Network, ANOVA = Analysis of Variance, BN = Bayesian Networks, CHAID = Chi-squared Automatic Interaction Detection, CT = Classification Trees, DS = Decision Stump, DT = Decision Tree, FC = Filtered Classifier, GLM = General Linear Model, GRM = Gamma Regression Models, IBD = Influence of Inflammatory Bowel, KNN = K-Nearest Neighbors, LB = Lobitboost, LinR = Linear Regression, LogR = Logistic Regression, MB = Multiboot, MNBR = Mixed Negative Binomial Regression, MVA = Multivariate Analysis, NB = Naïve Bayes, PCA = Principle Component Analysis, PLS-DA = Partial Least Squares Discriminant Analysis, RBFN = Radial Basis Function Network, RF = Random Forest, SMO = Sequential Minimal Optimization, SVM = Support Vector Machine, VP = Voted Perceptron.

3. Data Mining Tools

Thanks to the rapidly developing technology, many transactions executed virtually or in real-time are stored electronically. The experts use data mining methods to extract the relationships and rules which would help us forecasting the future within big data clusters, utilizing those data in large databases, in

order to solve current problems, to make critical decisions or to do estimations towards the future. A computer program is required for data mining applications. There are many software applications developed in this scope. Frequently used computer programs in literature are shown in Table 2.

Table 2. Comparison of data mining tools.

Tablo 2. Veri madenciliği araçlarının karşılaştırılması.

Tool	Description	Approches
R (42)	It's a free computer program for statistical calculation and graphics and it is also a programming language. Users may add packages to expand the capabilities of R. You can use this tool after some data mining experience and with some more programming skills.	Statistical and graphical techniques, including linear and nonlinear modeling, classical statistical tests, time-series analysis, classification, clustering, and others.
Matlab (43)	It isn't a open-source software programming. MATLAB already supports various implementations of different stages of the data mining process, including various toolboxes created by experts in the field.	Classification, classifiers, data mining, image processing, machine learning, pattern recognition, statistics.
Weka (44)	It's a open-source and platform independent software. Weka is a computer program developed in Java language and includes machine learning algorithms.	Data preprocessing, classification, clustering, association rule extraction.
Orange (44)	It's an open-source data visualization and analysis for novice and experts. Orange is a component based data mining and machine learning software süite written in the Python language.	Data management and preprocessing, classification, regression, association, ensembles, ensembles, evaluation, projections.
Rapid Miner (44)	It's an open-source system for novice and experts. RapidMiner provides an integrated environment for data mining, machine learning, text mining, business analytics and predictive analytics.	Data transformation, data preprocessing, visualization, modeling, evaluation, deployment.
Knime (44)	It's an open-source platform for novice and experts. KNIME is a user friendly and comprehensive data analytics framework.	Data access, data transformation, initial investigation, powerful predictive analtics, visualisation and reporting.
SPSS Clementine (45)	Clementine is a module developed by the company SPSS for data mining applications. Thus, SPSS allows utilizing statistical functions whereby providing artificial intelligence based algorithms.	Classification discovery, cluster discovery, regression discovery, association discovery, text mining, outlier discovery, data visualisation.
Enterprise miner (46)	Enterprise miner is a graphical user interface designed by the company SAS considering the requirements in data mining.	Classification, regression, two-stage models, clustering, time series, association.

CONCLUSION

Data mining algorithms are being widely used in many fields to reveal hidden information within the data. In this study, current studies conducted for

disease diagnosis and/or determination of risk factors using data mining methods in the field of veterinary were examined in detail. Furthermore, information was provided related to the data mining

process and some frequently used tools that might be implemented while mining the data.

We have observed that the use of data mining methods in the veterinary field gained momentum in recent years. There are very successful algorithms in the literature as well as those that are still being developed. Moreover, we have observed that the tools were mostly open-source and they did not require any prior knowledge of programming languages.

We have seen that popular methods such as decision trees, regression and artificial neural networks were used in the related studies. Besides, the latest developed methods in data mining were not implemented in order to solve the problems in the field of veterinary.

The performance of algorithms may vary in studies conducted on different data sets. The most important reason is the fact that it depends on the data source, the preprocessing on data and the selection of algorithm parameters. In studies, the researchers may use successfully tested algorithms and they may also use any algorithms which are proper for the dataset. These algorithms may produce different performances depending on the dataset.

We conclude that data mining which has been already implemented intensely in the fields of economy, industry and human health may produce successful results in livestock farming even though it is used rarely in this field. Thus, it has been observed that successful results are obtained from the data mining methods in the studies investigated within the scope of the article.

There are many areas and trends in the veterinary field where data mining experts can work. Automation technologies have the potential to enable and advance scientific knowledge. But in the veterinary field, there are limited studies. For example; Early detection / automate the detection of compromised health and welfare in animals using sensors studies, automatically diagnosing the health status of animals used by images studies, animal

detection by video camera studies and automatically animal identification studies.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Alpaydin E., 2014. Introduction to machine learning. 3rd ed., MA: The MIT Press, Cambridge.
2. Witten IH., Frank E., Hall MA., Pal CJ., 2014. Data Mining: Practical machine learning tools and techniques. 4th ed., Morgan Kaufmann Publishers, San Francisco.
3. Han J., Pei J., Kamber M., 2011. Data mining: concepts and techniques. 3rd ed., Morgan Kaufmann Publishers, Amsterdam.
4. Tomar D., Agarwal S., 2013. A survey on Data Mining approaches for Healthcare. *J BioSci Biotechnol*, 5, 241–266.
5. Cihan P., Gökçe E., Kalıpsız O., 2017. A review of machine learning applications in veterinary field. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23, 673-680. DOI:10.9775/kvfd.2016.17281
6. Küçükönder H., Üçkardeş F., Narinç D., 2014. A data mining application in animal breeding: Determination of some factors in Japanese Quail Eggs affecting fertility. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20, 903-908.
7. Uckardes F., Narinç D., Kucukonder H., Rathert TC., 2014. Application of classification tree method to determine factors affecting fertility in Japanese quail eggs. *J Anim Sci Adv*, 4, 1017-1023.
8. Mehraban Sangatash M., Mohebbi M., Shahidi F., Vahidian Kamyad A., Qhods Rohani M., 2012. Application of fuzzy logic to classify raw milk based on qualitative properties. *Int J Agrisci*, 2, 1168-1178.
9. Akilli A., Atıl H., Kesenkaş H., 2014. Çiğ süt kalite değerlendirmesinde bulanık mantık yaklaşımı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20, 223-229.
10. Memmedova N., Keskin İ., 2011. İneklerde bulanık mantık modeli ile hareketlilik ölçüsünden

- yararlanılarak kızgınlığın tespiti. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, 1003-1008.
11. Zarchi HA., Jonsson R., Blanke M., 2009. Improving oestrus detection in dairy cows by combining statistical detection with fuzzy logic classification. In *Proceedings of the 7th Workshop on Advanced Control and Diagnosis (ACD)*, Zielona, 20.
 12. Brown-Brandl TM., Jones DD., Woldt WE., 2005. Evaluating modelling techniques for cattle heat stress prediction. *Biosyst Eng*, 91, 513-524.
 13. Sharma AK., Sharma RK., Kasana HS., 2007. Prediction of first lactation 305-day milk yield in Karan Fries dairy cattle using ANN modeling. *Appl Soft Comput*, 7, 1112-1120.
 14. Chen LJ., Cui LY., Xing L., Han LJ., 2008. Prediction of the nutrient content in dairy manure using artificial neural network modeling. *J Dairy Sci*, 91, 4822-4829.
 15. Kuncheva LI., del Rio Vilas VJ., Rodriguez JJ., 2007. Diagnosing scrapie in sheep: A classification experiment. *Comput Biol Med*, 37, 1194-1202.
 16. Çelik B., Akçapınar H., 2006. Ankara Keçisinin tiftik özellikleri yönünde kümeleme analizi. *Lalahan Hay Arast Enst Derg*, 46, 19-27.
 17. Küçükönder H., Ayaşan T., Hizli H., 2015. Classification of holstein dairy cattles in terms of parameters some milk component belongs by using the fuzzy cluster analysis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 21, 601-606.
 18. Gevrekçi Y., Ataç FE., Takma Ç., Akbaş Y., Taşkın T., 2011. Koyunculuk açısından Batı Anadolu illerinin sınıflandırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, 755-760.
 19. Kılıç İ., Özbeyaz C., 2010. Bulanık kümeleme analizinin koyun yetiştiriciliğinde kullanımı ve bir uygulama. *Kocatepe Vet J*, 3, 31-37.
 20. Niemi JK., Lyytikäinen T., Sahlström L., Virtanen T., Lehtonen H., 2009. Risk classification in animal disease prevention: Who benefits from differentiated policy? Selected Paper Prepared for Presentation at the Agricultural and Applied Economics Association 2009 AAE and ACCI Joint Annual Meeting, Milwaukee, Wisconsin.
 21. Lyytikäinen T., Kallio ER., 2008. Risk classification of Finnish pig farms by simulated foot and mouth disease spread. *Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, Proceedings of a Meeting Held at Liverpool*, 285-300.
 22. Babcock AH., White BJ., Renter DG., Dubnicka SR., Scott HM., 2013. Predicting cumulative risk of bovine respiratory disease complex (BRDC) using feedlot arrival data and daily morbidity and mortality counts. *Can J Vet Res*, 77, 33-44.
 23. Hermann-Bank ML., Skovgaard K., Stockmarr A., Strube ML., Larsen N., Kongsted H., Ingerslev HC., 2015. Characterization of the bacterial gut microbiota of piglets suffering from new neonatal porcine diarrhoea. *BMC Vet Res*, 11, 139.
 24. Fayyad U., Piatetsky-Shapiro G., Smyth P., 1996. From data mining to knowledge discovery in databases. *AI magazine*, 17, 37.
 25. Niaksu O., 2015. Development and application of data mining methods in medical diagnostics and healthcare management. *Technological Sciences*, Vilnius University, Vilnius.
 26. Silver C., Lewins A., 2014. Using software in qualitative research: A step-by-step guide. 2nd ed., Sage publications, Los Angeles.
 27. Cios KJ., Pedrycz W., Swiniarski RW., 2007. *Data mining: A Knowledge Discovery*. Springer, New York.
 28. Tan PN., Steinbach M., Kumar V., 2006. *Introduction to Data Mining*, Pearson Addison-Wesley, Boston.
 29. Liu B., Hsu W., Ma Y., 1998. Integrating classification and association rule mining. *The Fourth International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*, New York City, 1-7.
 30. Yazdanbakhsh O., Zhou Y., Dick S., 2017. An intelligent system for livestock disease surveillance. *Information Sciences*, 378, 26-47.
 31. Saidani K., Lopez-Sandez C., Pablo DF., 2016.

- Effect of climate on the epidemiology of bovine hypodermosis in Algeria. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 22, 147-154.
32. Awaysheh A., Wilcke J., Elvinger F., Rees L., Fan W., Zimmerman KL., 2016. Evaluation of supervised machine-learning algorithms to distinguish between inflammatory bowel disease and alimentary lymphoma in cats. *J Vet Diagn Invest*, 28, 679-687.
 33. Boujenane I., El Aïmani J., 2015. Incidence and occurrence time of clinical mastitis in Holstein cows. *Turk J Vet Anim Sci*, 39, 42-49.
 34. Amrine DE., White BJ., Larson RL., 2014. Comparison of classification algorithms to predict outcomes of feedlot cattle identified and treated for bovine respiratory disease. *Comput Electron Agric*, 105, 9-19.
 35. Urbach YK., Raber KA., Canneva F., Plank AC., Andreasson T., Ponten H., Kullingsjö J., 2014. Automated phenotyping and advanced data mining exemplified in rats transgenic for Huntington's disease. *J Neurosci Methods*, 234, 38-53.
 36. Ahmed H., Khan MR., Panadero-Fontan R., Sandez CL., Asif S., Mustafa I., Qayyum M., 2013. Influence of epidemiological factors on the prevalence and intensity of infestation by *Hypoderma* spp. (Diptera: Oestidae) in cattle of Potowar Region, Pakistan. *Pakistan J Zool*, 45, 1495-1500.
 37. Piwczynski D., Sitkowska B., Wisniewska E., 2012. Application of classification trees and logistic regression to determine factors responsible for lamb mortality. *Small Rumin Res*, 103, 225-231.
 38. Geenen PL., van der Gaag LC., Loeffen WLA., Elbers ARW., 2011. Constructing naive Bayesian classifiers for veterinary medicine: A case study in the clinical diagnosis of classical swine fever. *Res Vet Sci*, 91, 64-70.
 39. Lopez CM., Fernandez G., Vina M., Cienfuegos S., Panadero R., Vazquez L., Diez-Banos P., Morrondo P., 2011. Protostrongylid infection in meat sheep from Northwestern Spain: Prevalence and risk factors. *Vet Parasitol*, 178, 108-114.
 40. Dawson, S., Else RW., Rhind SM., Collie DDS., 2005. Diagnostic value of cytology of bronchoalveolar fluid for lung diseases of sheep. *Vet Rec*, 157, 433-436.
 41. Sandholm T., Brodley C., Vidovic A., Sandholm M., 1996. Comparison of regression methods, symbolic induction methods and neural networks in morbidity diagnosis and mortality prediction in equine gastrointestinal colic. *AAAI 1996 Spring Symp Ser Artif Intell Med Appl Curr Technol*, California, 154-159.
 42. Ripley BD., 2001. The R project in statistical computing. *MSOR Connections*. The newsletter of the LTSN Maths, Stats & OR Network 2001, 1, 23-25.
 43. Trewartha D., 2006. Investigating data mining in MATLAB. Rhodes University, Department of Science, South Africa.
 44. Rangra K., Bansal KL., 2014. Comparative study of data mining tools. *Int J Adv Res Comput Sci Softw Eng*, 4, 216-223.
 45. Pujari P., Gupta JB., 2012. Exploiting data mining techniques for improving the efficiency of time series data using spss-clementine. *Res World J Arts Sci Commer*, 3, 69.
 46. Matignon R., 2007. *Data mining using SAS enterprise miner*. 1st ed., John Wiley & Sons, New York.



Kök Hücre

Ece ÇERÇİ^{1a}, Hatice ERDOST^{1b}✉

1. Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Görükle, Bursa, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0002-2740-4262^a, 0000-0003-1547-7293^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
15.11.2018	28.03.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Çerçi E, Erdost H: Kök Hücre. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.,14(2): 221-228, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.483253

Öz: Doku ve organlarda bulunan, kendini yenileyebilen ve canlılığın ihtiyacına göre farklılaşarak diğer doku hücrelerine dönüşebilen ve çoğalabilen hücreler "Kök Hücre" olarak tanımlanır. Kök hücreler; embriyonik kök hücrelerden ve embriyonik olmayan kök hücrelerden elde edilebilir. Embriyonik olmayan kök hücreler fetal kök hücrelerden, kadavradan, göbek kordonundan, plasentadan, kemik iliğinden, yağ dokudan, pekçok organda bulunan kök hücrelerden (somatik kök hücreler) veya son yıllarda farklılaştırma ile herhangi bir hücrenin kök hücre haline dönüştürülmesiyle oluşan hücrelerden elde edilebilmektedir. Totipotent, pluripotent ve yetişkin mezenkimal kök hücreler rejeneratif tıp, doku mühendisliği, veteriner hekimliği ile biyomühendislik alanları tarafından büyük ilgi görmektedir. Mezenkimal kök hücrelerin sağlıklı, ekonomik olarak çoğaltılabilmesi, ihtiyaç duyulan hücre tiplerine dönüştürülebilmesi, kök hücrelerin insan ve hayvanlarda tedavi amaçlı kullanımını mümkün kılacaktır. Bu derlemede; kök hücre, kök hücrelerin potansiyel kullanım alanları ve özellikle veteriner hekimlikteki uygulamaları yer almaktadır.

Anahtar Kelimeler: Erişkin Hücre, Pluripotent, Totipotent, Veteriner.

Stem Cell

Abstract: " Stem Cell" is defined as the cell which are found in a tissue or organ which can renew and replicate themselves according to the needs of the body and differentiate into other tissue cells. Stem cells can be obtained from embryonic stem cells and non-embryonic stem cells. Non-embryonic stem cells can be obtained from fetal stem cells, cadavers, umbilical cord, placenta, bone marrow, adipose tissue and in many organs (somatic stem cells) or in recent years, differentiation can be obtained from cells formed by transdifferentiating any cell into stem cells. Totipotent, pluripotent and adult mesenchymal stem cells are of great interest by regenerative medicine, tissue engineering, veterinary and bioengineering fields. The ability to reproduce mesenchymal stem cells in healthy, economically, and differentiate them into needed cell types will enable the use of stem cells in order to support the regeneration in humans and animals. This review covers the informations about stem cell, potential use of stem cells and their applications especially in veterinary medicine.

Keywords: Adult Cell, Pluripotent, Totipotent, Veterinary.

✉Hatice Erdost

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Görükle, Bursa, TÜRKİYE.
e-posta: edost@uludag.edu.tr

GİRİŞ

Canlı vücudunda, kendini rejenere edebilen ve vücudun gereksinimine uygun birçok hücreye farklılaşabilme yeteneğine sahip hücreler “Kök Hücre” olarak tanımlanır. Farklılaşmamış olan kök hücreler, diğer hücrelerin aksine başlangıçtaki hücrenin karakteristik özelliklerini taşır, minimum bir benzeri hücre oluşturabilme yeteneği (self-renewal) ile tek bir hücreden birden fazla hücre dizisine farklılaşabilme yeteneğine de (multi-lineage differentiation) sahiptirler (1). Kök hücreler, genler aracılığıyla aldıkları sinyale göre çoğu dokunun temel yapısını meydana getirebilmelerine rağmen, spesifik bir göreve sahip olan (Örneğin; sinir hücresi, kas hücresi, salgı epitel hücreleri vb.) özelleşmiş hücrelerin fonksiyonunu yerine getiremezler. Okarma (1) tarafından embriyonik kök hücre hatlarının 300-400 döngü süresince proliferasyon gösterdikleri belirlenmiştir. Telomeraz enzim aktivitesi aracılığı ile sınırsız bölünme yetenekleri oluşmaktadır (2). Hücrelerin bölünme yeteneğini kontrol eden DNA sarmalının uç bölgesinde telomer zinciri bulunmaktadır. Kök hücrelerde ise telomer zinciri oldukça uzun ve buna bağlı olarak telomeraz enzim aktivitesi yüksektir. Böylece, kök hücreler kendi kendine replikasyon göstererek çok uzun süre çoğalabilirler (2). Kök hücreyi diğer hücrelerden ayıran en önemli özelliklerden biri farklılaşma kapasitelerinin yüksek oluşudur. Çok hücreli organizmaları meydana getirmek amacıyla bir araya gelmiş hücrelerin, spesifik bir yapı kazanmak ve özgün görevleri üstlenmek üzere geçirdikleri bir dizi değişim “Farklılaşma” olarak tanımlanır. Kök hücreler farklılaşma potansiyeli ile organizmadaki yapım ve onarım olaylarında önemli görevlere sahiptirler (3).

1. Farklılaşabilme Potansiyeline Göre Kök Hücreler

Kök hücreler, totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere temel olarak 3 grup altında tanımlanmaktadır.

1.1 Totipotent Kök Hücreler

Zigot, canlının yapısındaki bütün hücrelere farklılaşma yeteneğinde olan ilk embriyonik kök

hücredir ve bu hücrelere herşeyi yapabilme kabiliyetinde olan “totipotent hücre” denir (Totus-tam, bölünmemiş; potentia-güç anlamındadır). Zigotun bölünmesiyle oluşan blastomer olarak tanımlanan tüm hücreler için de totipotent özellik geçerlidir. Ayrıca plasental yapıları oluşturabilmesi (dış hücre kitlesi ile trofoektoderm) ve tüm dokulara farklılaşabilmesi (iç hücre kitlesi ile) gibi özelliklere sahip olan bu kök hücreler, erken embriyonik dönemde canlıyı tekrar oluşturabilme kapasitesine sahiptirler. Bu hücreler fonksiyonel bir canlıyı en baştan oluşturabilecek tüm hücre tiplerine farklılaşabilirler. Bununla birlikte amniyon kesesi ve plasenta gibi embriyo dışı dokulara da dönüşme potansiyeline sahiptirler. Gelişmenin ileri evrelerinde totipotent kök hücreler; pluripotent kök hücrelere farklılaşabilirler (4).

1.2. Pluripotent Kök Hücreler

Fertilizasyondan sonra, pre-implantasyon döneminin 5. gününde oluşan blastosist fazındaki embriyoda bulunan hücrelerdir. Blastosist; trofoblast hücreleri, blastosöl ve iç hücre kitlesi olmak üzere üç yapıdan oluşmuştur. Pluripotent kök hücreler; embriyonik kök hücrelere kaynaklık eden iç hücre kitlesinden elde edilen hücrelerdir. Canlıdaki tüm doku ve organları oluşturabilmesi ile totipotent kök hücrelere benzemektedir. Ancak plasental yapıları oluşturamazlar ve buna bağlı olarak yeni bir canlıyı meydana getiremezler. Ancak bu hücreler gerekli ortam sağlandığında yaklaşık 200 hücre türüne dönüşebilecek potansiyelindedirler (4).

1.3. Multipotent Kök Hücreler

Embriyonik gelişmenin daha ileri evresine ait hücreler olup, erişkin kök hücrelerine dönüşürler ve özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilirler. Multipotent kök hücreler (MKH) insanda embriyo gövdesinde 16. günden ve intrauterin evrede 4. aydan itibaren tüm kan hücreleri ve birçok organa özgü çeşitli hücrelere farklılaşabilen kök hücre grubudur (5). MKH erişkin bireylerin dokularında bulunan tek bir germ yaprağına ait ve birbirine yakın hücre gruplarına farklılaşabilen hücrelerdir. MKH ilk olarak kemik iliğinden Friedenstein ve ark. (5),

tarafından izole edilmiş ve Caplan (6) tarafından da karakterize edilmiştir.

2. Elde Edildikleri Doku ve Organlara Göre Kök Hücre Kaynakları

Kök hücreler; embriyonik ve embriyonik olmayan kök hücrelerden elde edilebilir. Embriyonik olmayan kök hücreler fetal kök hücrelerinden, kadavradan, göbek kordonundan, plasentadan, kemik iliğinden, yağ dokudan, birçok organda bulunan kök hücrelerden (somatik kök hücreler) veya son yıllarda farklılaştırma ile herhangi bir hücrenin kök hücre haline dönüştürülmesiyle oluşan hücrelerden elde edilebilmektedir (1-2).

Günümüzde özellikle rejeneratif tıp uygulamaları için özellikle embriyonik ve erişkin kök hücreler kullanılmaktadır. Birden çok farklı potansiyellere sahip, totipotent özellik taşıyan embriyonik kök hücreler; rejeneratif tıp uygulamaları için oldukça uygundur. Ancak bu hücrelerin elde edilmesinde ve kullanılmasında etik açıdan birçok engel bulunmaktadır. Buna karşın erişkin kök hücreler hem immunolojik açıdan sorunsuzdur hem de etik sorunlar oluşturmazlar (7). Erişkin bir canlının vücudunda da kök hücre kaynakları bulunmaktadır. Erişkin kök hücreler, farklılaşmış dokularda bulunan farklılaşmamış hücrelerdir. Her yaştaki canlıda bulunan bu hücreler kendilerini yenileyebilir ve ihtiyaç halinde farklı hücre türlerine dönüşebilirler. Bu hücreler buldukları dokularda yaşlanan, dejenerasyona uğrayan veya ölen hücrelerin yerine, yenilerini üreten yedek parça olarak görev yaparlar (8). İnsan vücudunda kemik iliği, iskelet kası, göz, umbilikal kord, sinir, karaciğer, dental pulpa ve deri gibi birçok dokularda bulunur. Organ spesifik kök hücreleri vücutta az miktarlarda oldukları için izolasyonları da ayrı bir sorun teşkil etmektedir ve canlı yapı (in-vivo ortam) dışında embriyonik kök hücreler kadar çoğalma yetenekleri yoktur. Erişkin kök hücreleri; multipotent mezenkimal kök hücre özelliğinde olup embriyonik kök hücrelere göre gelişme kapasitesi daha azdır ancak, dokuya özgü farklılaşmaları, bu kök hücreleri diğer kök

hücrelerden ayıran önemli bir özelliktir (9). Kas hücrelerinin bazal membranının hemen altında bulunan satellit hücrelerini kas dokuya ait erişkin kök hücreler olarak tanımlamıştır (10). Bu tanımlamalar erişkin kök hücrelerin ilk sınıflandırması olmuştur. Bundan sonra 1960'lı yılların sonunda çalışmalar hız kazanmış, kemik iliği mezenkimal kök hücreler (MKH); kordon kanında erişkin hematopoetik kök hücreler ve nöral kök hücreler bulunmuştur (11). Erişkin kök hücreler üzerinde yapılan birçok araştırma kemik iliği kaynaklı kök hücreler üzerinde yoğunlaşmıştır. İnsan kemik iliği embriyonik mezodermden köken alır. Kemik iliği hücreleri başlıca iki hücre grubundan oluşur; bunlar hematopoetik kök hücreler ve destek özelliğindeki MKH'dir. Hem deney hayvanlarında hem de insanlarda söz konusu stromal hücre grubu, heterojen hücre gruplarından oluşmakta olup, bu gruplardan biri de MKH olarak adlandırılan bir grup hücredir (12). Friedenstein ve ark.'nın (5) fibroblast kolonisi yapan hücre grubu (CFU-F) olarak tanımladığı; non-hematopoetik kemik iliği progenitörleri olan MKH, günümüzde özellikle rejeneratif ve immunoregulator etkileri nedeniyle klinik tedaviye uygunluğu Avrupa birliği (AB) tıp ajansı tarafından ilaç (Cell Drug) kapsamına alınmasını sağlamıştır (13). Adipoz doku, kemik iliği, periferik kan ve kordon kanı ile kıyaslandığında daha fazla MKH içermektedir (6,8). Yağ dokusundan multipotent kök hücreleri, ilk kez Zuk ve ark. (14) tarafından izole edilmiş ve yağ doku kökenli kök hücreler olarak tanımlanmıştır. MKH, kemik iliği ve yağ doku dışında ise sinoviyal membrandan, iskelet kasından, dermisten, perisitten, kıkırdaktan, tendodan, trabeküler kemikten, göbek kordonundan, akciğerden, diş pulpasından, amniotik sıvıdan, fetal karaciğerden ve periferik kandan izole edilebilir (14).

3. Erişkin Kök Hücreler

Erişkin kök hücre olan MKH'ler multipotent özelliktedirler. MKH'ler stromal orjine sahip olmaları sayesinde; genel anlamda "destek hücresi" özelliği taşımaları ile tıbbın birçok alanında uygulanma olanağını arttırmaktadır. Birçok dokudan izole

edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli ve dayanıklı hücrelerdir. Bunlar kemik iliği hücrelerinin yaklaşık %0.01 ile %0.001'ini oluştururlar (7,13,14). Yapılan çalışmalar ile MKH'ler adiposit, kondrosit, myoblast ve osteoblast hücrelerine farklılaştırılmıştır. MKH'ler, elde edildikleri dokudan bağımsız olarak plastik hücre kültür kaplarına adhezyon gösterebilme, çok yönlü farklılaşabilme ve özellikle belirli fenotipik yüzey markırları taşımaları gibi birçok özellikleriyle, hematopoetik kök hücrelerden yüzey markırları sayesinde (CD105, CD54 (ICAM-1), CD49e (α 5-integrin), CD73 ve CD39) ve kolaylıkla ayrılabilirler (15). MKH'lerin özellikle rejeneratif tıp yönünden en çok dikkat çeken özelliği; uygun mikro çevre koşullarının sağlanması ile başta bağ doku olmak üzere çok çeşitli hücre tiplerine dönüşebilme potansiyeline sahip olmasıdır. Araştırmalar (15,16) in vitro koşullarda uygun hücre gelişme faktörleri ile adipojenik, osteojenik, miyojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyelleri yanında hematopoetik stroma oluşturabildiklerini de göstermiştir. Günümüzde iskelet sistemi ile ilgili olan tümör, travma, osteoporoz ve osteoartrit gibi dejeneratif hastalıklarda MKH'lerin uygulanması ile ilgili çalışmalar hızla artmaktadır. Kıkırdak ve kemik hasarlarında, travma ve yaşlılık sonucu ortaya çıkan osteoartritte MKH'lerin kullanılması da uygun görülmektedir (7,9,15,17).

4. Erişkin Kök Hücrelerin Tedavide Kullanımı

MKH'lerin klinik kullanım açısından en önemli dezavantajı, sayılarının çok az olması nedeniyle in vitro ortamda birkaç hafta süreyle çoğaltılma gereksinimidir. Bunlar yüksek bir teknolojik alt yapı, uzman ve teknik personel deneyimi gerektirmesi ile doğal olarak maliyeti de yükseltir. Aynı zamanda bu durumun, hücrelerin kültür ortamında subkültüre edilmesi sonucu çeşitli kimyasal uyarılar ve faktörlerin etkisiyle fenotipik, immünolojik ve diğer biyolojik özelliklerinde değişikliklere de yol açabileceği öngörülmektedir. Çalışmalardaki tümör oluşumu ile ilgili verileri birbiriyle kıyaslamak oldukça güç olsa da, bu hücrelerin immünolojik yönden

sağlıklı hayvanlarda bile tümör oluşturabilmeleri dolayısıyla henüz klinik açıdan tam olarak güvenli bir şekilde kullanılabilirliği sorgulanmaktadır (17). Buna karşın; insanda görülen birtakım hastalıkların hayvan modellerindeki kök hücre tedavileri sonucunda; tümör oluşmamış olması da üzerinde durulması gereken önemli bir bulgudur(17). Doku mühendisleri, yaptıkları deneysel çalışmalarda kemik iliğinden elde edilmiş MKH'lerin umut verici olduğunu göstermişlerdir (7,14). Ancak mevcut genel veya spinal anestezi gerektirecek kadar invazif yöntem içeren kemik iliği biyopsi yöntemiyle alınan kemik iliği materyalinden çok az miktarlarda MKH izole edilmesi, devamında ex-vivo bir ekspansiyon işlemi gerektirmesi, zaman alıcı ve pahalı olması, hücre kontaminasyonu ile hücre kaybı olasılığı kullanımı sınırlandırmaktadır. Bu sebeplerden dolayı ile hastanın konforunu çok bozmayan, istenen dokuya farklılaşabilecek, dokuların bakım ve onarımı için kullanılacak hücreler üzerinde çalışmalar artmıştır (8,13,14).

Kemik iliği kökenli hücreler, erişkin kök hücreler için iyi bir örnek oluşturmaktadır. Kemik iliği kök hücreleri kırk yıldan yıldan uzun bir zamandır hematolojik hastalıklarda kullanılmaktadır (15). Erişkin kök hücreler organizmanın canlılığı boyunca kendini rejenere edebilme özelliğini koruyan hücrelerdir. Buna rağmen, vücut dışında embriyonik kök hücreler gibi spesifik özelliklerini uzun süre koruyarak üretilememektedirler. Erişkinde bulunan hücreler, prekürsör hücrelere ve daha sonra da spesifik hücrelere farklılaşırlar. Bu açıdan, erişkin kök hücreleri inceleme aşamasında, bu hücreleri doku spesifik öncü hücrelerden izole etmek oldukça güçtür (16). Yağ dokusundan orjin alan kök hücrelerin, kemik iliği orjinli kök hücreler kadar farklılaşabilme potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir (17,18). Kemik iliği ile yağ doku kıyaslandığında; yağ dokudan daha fazla sayıda kök hücre elde edilebilmektedir. Erişkin kök hücrelerin yerleşik olduğu doku ve organlarda; küçük hasarların giderilmesinde görevli olduğu ancak bu hücrelerin sadece belirli bir grup hücreye farklılaşabileceği düşünülmekteydi (19).

Fakat günümüzde bu hücrelerin böbrek, kemik iliği hücreleri, iskelet kası, sinir ve karaciğer hücrelerine farklılaşabileceği rapor edilmiştir (20). Üstelik; günümüzde erişkin bir hücrenin bir dizi transkripsiyon faktörleri ile geriye doğru değişime uğrayarak pluripotent özellik taşıyan bir kök hücreye farklılaşabileceği gösterilmiştir (21). Bir başka çalışmada (22), burun boşluğunu örten dokudan elde edilen kök hücrelerin, embriyonik kök hücreler gibi yüksek bir farklılaşma yetenekleri olduğu gösterilmiştir.

Yağ dokunun da kemik iliği gibi embriyonik mezoderm orjinli olması ile heterojen stromal hücre popülasyonu içermesi, yağ dokusundan MKH'lerin elde edilebileceği fikrini doğurmuştur (1,14,23). Yağ dokudan birden fazla değişik doku gruplarına farklılaşma yeteneği bulunan bir kök hücre popülasyonu izole edilmiştir. Bu hücre popülasyonunun farklı öncü hücrelerden oluşmadığı, tek bir tip hücre olduğunu kanıtlamış ve bu hücreler "Yağ Doku Kökenli Kök Hücre (YDKKH); Adipose-derived stem cells (ADSCs)" olarak tanımlanmıştır. Bu hücrelerin adipojenik, kondrojenik, osteojenik ve myojenik gibi farklı mezodermal hücre tiplerine farklılaşma yanında mezenkimal kök hücre potansiyelindeki hücrelerde etkin proliferasyon yetenekleri de gösterilmiştir (22,24). Bunun yanında; ektodermal kökenli doku gruplarına farklılaşmaları (nöron, oligodendrosit benzeri hücreler, fonksiyonel Schwan hücresi gibi) ile hepatosit ve pankreas adacık hücreleri gibi endodermal diziden bazı hücrelere farklılaşmaları da gerçekleştirilmiştir (25). Günümüzde doku mühendisliğinde farklı biyomateryaller ile birlikte kök hücreler çalışılmaktadır. Örneğin iskemi sonrası revaskülarizasyon, kalp-damar sistemi rejenerasyonu, kemik-kıkırdak defektlerinin onarımı, intervertebral disk yenilenmesi, spinal kord yaralanmaları ve üriner sistem rekonstrüksiyonu çalışılan güncel araştırmalardır (17,25-27).

Erişkin yağ doku kök hücreleri izolasyonu az invazif olması ve kolay elde edilebilmesi, daha fazla sayıda hücre eldesi, adezyon ve proliferasyonunun

hızlı olması gibi oldukça fazla avantaja sahiptir (24). Genel olarak yağ dokudan köken alan MKH'ler için izolasyon sonrası 2, 3 ve 4. pasaj hücrelerine in vitro ve in vivo olarak pek çok hastalık için ön çalışma uygulanmaktadır (8,26). ADSCs'lerin pasaj 3 ve sonrasında fenotipik karakterizasyonunun belirlenmesi için çeşitli yüzey markörleri kullanılmaktadır. Karakteristik yağ doku yüzey markörleri ADSCs'ler için, CD26, CD105, CD29, CD39, CD54, CD90, CD73, vimentin (C-20), fibronectin (EP5), ASMA, myogenin (F5D), MAP 2a,b (AP20), Ki67, PCNA, ve tenascin-C pozitif immunhistokimyasal özelliklere sahipken CD71 (K-20) cytokeratin, CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 alpha ve CD19'da immun negatif markörlerdir (6,12). Bu yüzey markörleri, hücrelerin kök hücre özelliğini taşıyıp ve taşımadığı tanımlamaktadır.

Günümüzde in-vitro ortamda üretilen kök hücrelerin direkt tedavi ajanı olarak kullanıldığı klinik çalışmalar da hızla artmaktadır. Aynı zamanda çeşitli farmakolojik veya kimyasal ajanların kök hücrelere olan etkileri rejeneratif tıp alanında pek çok hastalık için inceleme konularıdır (28). Özellikle kas, sinir sistemi (29) kalp hastalıkları (30), otoimmün hastalıklar (31), tip 2 diyabet (32), multiple skleroz (33), chron's (34), acute graft-versus-host (35), tendinit (36), artrit (37), korneal dejenerasyonlar (38), glomerular-kapillar duvarının refonksiyonu (39), parkinson (40) gibi dejeneratif hastalıkların tedavisi için MKH'ler ile rejeneratif uygulamalar yapılmaktadır.

5. Kök Hücrenin Veteriner Hekimlikte Önemi

Veteriner hekimlerin kök hücreyi özellikle yara iyileşmeleri, metabolik hastalıklar, kemik, kas, ligament, tendon ve eklem hastalıkları gibi daha birçok tedavi alanlarında uygulanabilmesi oldukça umut vericidir (36,41-42). Spor atı hekimliğinde en sık karşılaşılan sorun tendo hasarlarıdır. Tendo hasarlarında kök hücre kullanımının akut fazda iken yapıldığında önemli ölçüde pozitif bulgular elde edildiği bildirilmiştir (41). Kök hücrelerin hem tendonun hasarı devamında yangısal reaksiyonları baskıladığı hem de rejenerasyon kapasiteleri ile

tendo dokusunun yeniden oluşturulmasında rol oynadığı saptanmıştır (42). Yaş ile ilgili ortopedik sorunların yanı sıra köpeklerin genç yaşta yaşadıkları "kalça ve dirsek displazisi" gibi dejeneratif eklem hastalıklarında kök hücre tedavisi uygulanabilmektedir (43). Özellikle hızlı büyüyen iri ırk köpeklerde sık karşılaşılan kalıtsal kökenli bir hastalık olan kalça displazisi günümüzde veteriner ortopedistlerin başını en çok ağrıtan problemlerden birisidir (44). Gerek yaşa bağlı gerekse displazik hastalıklarda asıl problem kıkırdak dokudaki hasardır ve bu noktada kök hücre tedavisi belki de aranan çözüm olabileceğini düşündüren çalışmalar yapılmaktadır (44-45).

SONUÇ

Kök hücrenin birçok hastalık ve sağlık sorunlarının tedavisi kapsamında güvenli ve etkin kullanılabilmesi için yapılması gereken pek çok araştırma bulunmaktadır. Uluslararası Kök Hücre Araştırmaları Topluluğu (ISSCR), kök hücre tedavilerinin dünya genelinde güvenli ve etkili olduklarının kanıtlanması yanında ticari olarak kullanılabilir duruma getirilmesi için, önce laboratuvar çalışmalarının, sonrasında ise klinik araştırmaların yapılmasını önermektedir. Bu gelişmeler sonucunda, gelecekte kök hücre araştırmaları gerek insanda gerekse hayvanlarda tedavi modellerini değiştirecektir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Okarma T., 1998. Human primordial stem cells, *Hastings Cent Rep*, 104, 30.
- Aragona M., Maisano R., Panetta S., Giudice A., Morelli M., La Torre I., La Torre F., 2000. Telomere length maintenance in aging and carcinogenesis, *Int J Oncol*, 17, 981–989.
- Huang S., Fu R., Shyu W., 2013. Adipose-derived stem cells: Isolation, characterization, and differentiation potential. *Cell Transplant*, 22, 701-709.
- Morgani SM., Canham MA., Nichols J., Sharov A. A., Migueles RP., Ko MS., Brickman JM., 2013. Totipotent embryonic stem cells arise in ground-state culture conditions. *Cell Rep*, 3, 1945-1957.
- Friedenstein A., Gorskaja J., Kulagina N., 1976. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs, *Exp Hematol*, 4, 267-274.
- Erdost H., Çerçi E., 2018. Immunohistochemical localization of Ki67 antibody derived by adipose tissue, *ISMSIT*, 385-392.
- Hoogduijn MJ., 2015. Are mesenchymal stromal cells immune cells?, *Arthritis Res Ther*, 17, 88.
- Özen A., Gül Sancak İ., Ceylan A., Özgenç Ö., 2016. Isolation of adipose tissue-derived stem cells. *Turkish J Vet Anim Sci*, 40, 137–141.
- Çerçi E., Erdost H., 2016. Adipose tissue derived mesenchymal stem cells from rat with non-enzymatic isolation method. *CBU-SBED*, 3:(2), 299-302.
- Mauro A., 1961. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol*, 9, 493-495.
- Krause D., 2002. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Gene Ther*. 9,754-758.
- Erdost H., 2017. Mezenkimal Kök Hücre, 1. baskı, "Kök Hücre", Dora Yayınları, 15-18, Bursa, Türkiye.
- Karathanasis SK., 2014. Regenerative medicine: Transforming the drug discovery and development paradigm. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 4, 1-11.
- Zuk PA., Zhu M., Mizuno H., Huang J., Futrell JW., Katz AJ., Benhaim P., Lorenz HP., Hedrick MH., 2001. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies, *Tissue Eng*, 7, 211-228.
- Chen Z., Chang M., Peng Y., Zhao L., Zhan Y., Wang L., Wang R., 2007. Osteogenic growth peptide C-terminal pentapeptide [OGP(10-14)] acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to

- inhibit differentiation to adipocytes, *Regul Pept*, 142, 16-23.
16. Colter D., Class R., Di Girolam C., Prockop D., 2000. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 28, 3213-3218.
 17. Ciuffo BG., Karnoub AE., 2012. Mesenchymal stem cells in tumor development: emerging roles and concepts. *Cell Adh Migr*, 6, 220-230.
 18. Szöke K., Dankova J., Buzgo M., Amler E., Brinckmann JE., Ostrup E., 2017. The effect of medium composition on deposition of collagen type 1 and expression of osteogenic genes in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue and bone marrow. *Process Biochem*, 59, 321-328.
 19. Li C., Wu X., Tong J., Yang X., Zhao J., Zheng Q., Zhao G., Ma Z., 2015. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. *Stem Cell Res Ther*, 6, 55.
 20. Sichier D., Lambrecht BN., Williams M., Scott CL., 2017. Development of conventional dendritic cells: From common bone marrow progenitors to multiple subsets in peripheral tissues. *Mucosal Immunol*, 10, 831-844.
 21. Abou-Saleh H., Zouein FA., El-Yazbi A., Sanoudou D., Raynaud C., Rao C., Pintus G., Dehaini H., Eid AH., 2018. The march of pluripotent stem cells in cardiovascular regenerative medicine. *Stem Cell Res Ther*, 9, 201.
 22. Yang C., Li J., Lin H., Zhao K., Zheng C., 2015. Nasal mucosa derived-mesenchymal stem cells from mice reduce inflammation via modulating immune responses. *PLoS One*, 10, 1-11.
 23. Weissman I., 2016. Linked references are available on JSTOR for this article : Translating stem and progenitor to the clinic : barriers and opportunities. *Science*, 287(5457), 1442-1446.
 24. Erdost H., Çerçi E., 2018. Growth curve of mesenchymal stem cell originated from adipose tissue. *ISMSIT*, 393-397.
 25. Munir H., Ward LSC., Sheriff L., Kemble S., Nayar S., Barone F., Gerard B. Nash, McGettrick H.M., 2017. Adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells alters their immunomodulatory properties in a tissue-specific manner. *Stem Cells*, 35, 1636-1646.
 26. Erdost H., Çerçi E., İlhan T., Özgüden Akkoç CG., 2017. Use of mesenchymal stem cells originated from fat tissue in bone tissue regeneration. III. International Stem Cell Symposium; New Approaches to Stem Cell Application in Patient-Based Therapy, pp:76-77, Manisa, Turkey.
 27. Badimon L., Onate B., Vilahur G., 2015. Adipose-derived mesenchymal stem cells and their reparative potential in ischemic heart disease. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 68, 599-611.
 28. Christ GJ., Saul JM., Furth ME., Andersson KE., 2013. The pharmacology of regenerative medicine. *Pharmacol Rev*, 65, 1091-1133.
 29. Duncan T., Valenzuela M., 2017. Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy. *Stem Cell Res Ther*, 8, 111.
 30. Henning RJ., 2018. Current status of stem cells in cardiac repair. *Future Cardiol*, 14, 181-192.
 31. Fang Y., Gao T., Zhang B., Pu J., 2018. Recent advances: Decoding Alzheimer's disease with stem cells. *Front Aging Neurosci*, 10, 77.
 32. Peng BY., Dubey NK., Mishra VK., Tsai FC., Dubey R., Deng WP., Wei HJ., 2018. Addressing Stem Cell Therapeutic Approaches in Pathobiology of Diabetes and Its Complications. *J Diabetes Res*, Article ID 7806435, 16.
 33. Muraro PA., Martin R., Mancardi GL., Nicholas R., Sormani MP., Saccardi R., 2017. Autologous haematopoietic stem cell transplantation for treatment of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*, 13, 391-405.
 34. Zhang XM., Zhang YJ., Wang W., Wei YQ., Deng HX., 2017. Mesenchymal stem cells to treat crohn's disease with fistula. *Hum Gene Ther*, 28, 534-540.
 35. Shi Y., Wang Y., Li Q., Liu K., Hou J., Shao C., Wang

- Y., 2018. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat Rev Nephrol*, 14, 493-507.
36. Markoski MM., 2016. Advances in the use of stem cells in Veterinary medicine: from basic research to clinical practice. *Scientifica (Cairo)*, 4516920.
37. Nam Y., Rim YA., Lee J., Ju JH. 2018. Current therapeutic strategies for stem cell-based cartilage regeneration. *Stem cells Int*, 8490489.
38. Ouyang H., Goldberg JL., Chen S., Li W., Xu G-T, Li W., Zhang K., Nussenblatt RB., Liu Y., Xie T., Chan C-C, Zack DJ, 2016. Ocular stem cell research from basic science to clinical application: A report from zhongshan ophthalmic center ocular stem cell symposium. *Int J Mol Sci*, 17, 415.
39. Zheng J., Wang Q., Leng W., Sun X., Peng J., 2018. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium attenuates tubulointerstitial fibrosis by inhibiting monocyte mobilization in an irreversible model of unilateral ureteral obstruction. *Mol Med Reports*, 17, 7701-7707.
40. Fang Y., Gao T., Zhang B., Pu J., 2018. Recent advances: Decoding Alzheimer's disease with stem cells. *Front Aging Neurosci*, 10, 77.
41. Spaas JH., Broeckx S., Van De Walle GR., Poletini M., 2013. The effects of equine peripheral blood stem cells on cutaneous wound healing: A clinical evaluation in four horses, *Clin Exp Dermatol*, 38, 280-284.
42. Guercio A., Di Marco P., Casella S., Russotto L., Puglisi F., Majolino C., Giudice SD., Purpari G., Cannella V., Piccione G., 2015. Mesenchymal stem cells derived from subcutaneous fat and platelet-rich plasma used in athletic horses with lameness of the superficial digital flexor tendon. *J Equine Vet Sci*, 35, 19-26.
43. Morcos MW., Al-Jallad H., Hamdy R., 2015. Comprehensive review of adipose stem cells and their implication in distraction osteogenesis and bone regeneration. *Biomed Res Int*, 1-20.
44. Vilar JM., Batista M., Morales M., Santana A., Cuervo B., Rubio M., Cugat R., Sopena J., Carrillo JM., 2014. Assessment of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. *BMC Vet Res*, 10, 1-7.
45. Kirkby KA., Lewis DD., 2012. Canine hip dysplasia: Reviewing the evidence for nonsurgical management. *Vet Surg*, 41, 2-9.



Atlarda Glisemik İndeks ve İnsülin Direnci

Emre YILMAZ^{1a}, Mehmet GÜL^{1b}✉

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0003-1004-6531^a, 0000-0001-5477-1773^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
05.02.2019	24.05.2019	25.10.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Yılmaz E, Gül M: Atlarda Glisemik İndeks ve İnsülin Direnci. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.,14(2): 229-237, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.522351

Öz: Atlar, fiziksel aktiviteleri yüksek olmasına rağmen mide yapılarından dolayı düşük enerjili ve selülozca zengin yemlerle beslenmekte ve ortalama 1-2 saatte bir yem tüketmek zorundadırlar. Fakat atçılık sporunun gelişmesiyle birlikte, enerji ihtiyaçlarının artması, atların nişasta ve şeker içeriği yüksek rasyonlar ile beslenmesinin önemini ön plana çıkarmıştır. Atların, yemlerinde bulunan nişasta ve şeker konsantrasyonunun yükseltilmesi ile insülin direnci, obezite, laminitis ve osteokondrozis gibi sindirimsel ve metabolik rahatsızlıkların görülme insidensi de artmaktadır. Atların tükettikleri yemin nişasta ve şeker içeriğinin tespit edilip, kontrol edilebilmesi amacıyla Glisemik İndeks (GI) değeri üzerinde durulmaktadır. GI, yemlerin belli bir zaman diliminde, kan glikoz seviyesini artırma potansiyeli baz alınarak, yemlerin standart bir yeme göre sınıflandırılmasında kullanılan ve yüzdelik olarak ifade edilen bir indekstir. Atlarda, GI hesaplamasında standart olarak en çok glikoz, yulaf, mısır ve çayır otu kullanılmaktadır. Nişasta ve şekerlerden elde edilen glikozun sindirimini ve emilimini çok sayıda faktör etkilemektedir. Bu faktörlerin bilinmesi, GI'nin kullanılabilirliğini daha iyi anlamayı sağlayacaktır. Bu derleme, atlarda GI değerlerini etkileyen faktörleri, GI'nin yüksekliğinin atlarda meydana getirdiği rahatsızlıklar ve kullanılabilirliği hakkında bilgi vermek amacıyla hazırlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: At, Glisemik İndeks, Hastalıklar, İnsülin Direnci.

Glycemic Index and Insulin Resistance in Horses

Abstract: Horses feed with forages low-energy and high-cellulose although they are physically active animals. Thus, they must intake feed every 1-2 hours. However, with the development of equestrian sport, the increase in energy needs, the importance of feeding horses with diets with high starch and sugar content has emphasized. The elevating sugar/starch concentration in horse' diets, increased incidence of digestive and metabolic disorders such as insulin resistance, obesity, laminitis and osteochondrosis. In order to determine and control the glucose content of the diets consumed by the horses, the Glycemic Index (GI) is emphasized. GI is used to classify feeds according to the standard feed compare the potential to increase blood glucose level of the test feeds over a period of time and is an index expressed as a percentage. In horses, glucose, oats, corn and grass are used as standard. The digestion and absorption of glucose derived from starch and sugars are affected by many factors. Knowing these factors will provide a better understanding of the usability of GI. This review is prepared to determine the factors affecting to GI, the diseases caused by higher GI, and the usability of GI in horses.

Keywords: Diseases, Glycemic Index, Horse, Insulin Resistance.

GİRİŞ

Atların yüksek miktarda enerji gerektiren işlerde kullanımının yaygınlaşması ile rasyondaki nişasta ve şeker içeriği artırılarak enerji ihtiyacı karşılanmaya çalışılmıştır. Fakat, NRC (1) tarafından belirlenen standartlara göre, atların dinlenme halindeyken alması gereken günlük nişasta miktarı, vücut ağırlıklarının %0.2-0.4'ünden fazla olmamalıdır. Yapılan çalışmalar ile atların, rasyonlarında bulunan nişasta ve şeker konsantrasyonunun artırılması sonucu insülin direnci (2) ile laminitis, obezite ve osteokondrozis (3) gibi metabolik rahatsızlıklar arasında önemli bir ilişki olduğu belirtilmektedir. Yüksek nişasta ve şeker alımına bağlı olarak metabolik rahatsızlıkların artması, atlarda glikozun kandaki seviyesini ve etkinliğini bilmenin gerekliliğini gündeme getirmiştir.

1.Genel Kavramlar

1.1.Glisemik Yanıt

Glisemik Yanıt (GY), yemden sağlanan glikozun, kan plazmasında zamana bağlı olarak değişim grafiğinde taban çizgisinin üstünde bulunan alanın (TCAA)

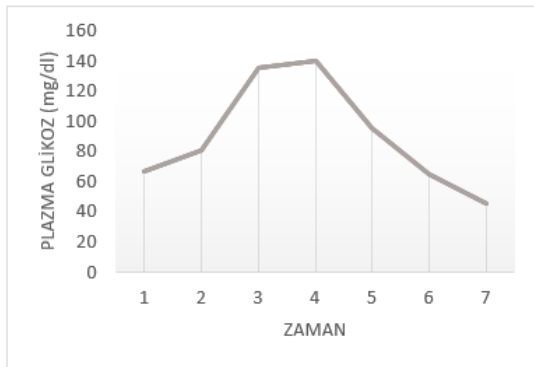
hesaplanması ile elde edilen bir değerdir (4). GY testlerinde hayvanlara verilecek yem maddeleri hesaplanırken yemlerde bulunan nişasta ve şeker miktarı, sindirilebilir enerji miktarı ve tüketilen toplam yemin kuru madde miktarı dikkate alınmaktadır (5). Yem/besin maddeleri verildikten sonra belli aralıklarla atlardan kan alınarak TCAA değeri hesaplanmaktadır. Kan alım işlemi yapılırken zaman aralıklarına dikkat edilmelidir. Bu işlemin süresinin uzamasının veya kısalmasının bazı olumsuz etkileri vardır. Kan alım aralıklarının kısılması, invaziv etkilerinden ötürü hayvanda stres oluşturmaktayken, kan alım işleminin aralıklarının beklenenden uzun olması yeterli bir veri elde edilebilmesi açısından mümkün olmamaktadır (6).

1.1.1. Hesaplama

Glikozun TCAA'sının belirlenmesi için trapezoidal kural kullanılmaktadır (Şekil 1). Bu kural ile sırasıyla TCAA₁, TCAA₂, TCAA₃, TCAA₄, TCAA_n ve TCAA_{n+1} alanlarının bulunup, bu değerlerin toplanmasıyla elde edilen toplam alana GY adı verilmektedir (7).

Şekil 1. Örnek bir plazma glikoz- zaman grafiğinden glisemik yanıt hesaplama (4).

Figure 1. Calculation of glycemic response from a sample plasma glucose-time chart (4).



$$\Delta TCAA_{n-n+1} = \frac{(Cp_n + Cp_{n+1}) \times (t_{n+1} - t_n)}{2}$$

$$\text{Örnek: } \Delta TCAA_{1-2} = \frac{(60+80)}{2} \times (2-1)$$

$\Delta TCAA$: Taban çizgisi üzerindeki alan, Cp: Plazma glikoz konsantrasyonu, t: Süre.

$$\Delta TCAA_{\text{glikoz toplam}} = \Delta TCAA_{0-1} + \Delta TCAA_{1-2} + \Delta TCAA_{2-3} + \Delta TCAA_{3-4} + \dots + \Delta TCAA_{n-n+1}$$

1.2. İnsülinemik Yanıt

İnsülin, glikoz metabolizmasının düzenlenmesinden sorumlu bir hormondur. İnsülin, spesifik insülin reseptörlerine bağlanıp hücrelere sinyal göndererek etkinliğini gösterir. Yem tüketiminden sonra glikoza verilen insülin tepkisi glikozla paralel seyredebileceği gibi, glikozdan bağımsız bir şekilde de hareket edebilmektedir (8). Örneğin, insülin direnci oluştuğunda glikoz arzı az olsa bile beklenenin aksine insülin üretimi artabilmekte veya yetersiz kalabilmektedir. İnsülin direnci oluşumu sonrasında kanda insülin/glukagon dengesizliği oluşmaktadır. Bu iki hormonun dengesizliği kanda bulunan tüm glikozun düşmesine kadar devam edebilmektedir (2). İnsülinemik yanıt (İY), GY'e ile benzer yöntemle hesaplanabilmektedir (7).

1.3. İnsülin Direnci

İnsülin direnci (İD), insülinin kanda normal veya yüksek düzeyde bulunmasına rağmen dokularda (özellikle yağ doku, iskelet doku ve karaciğer) İY'nin azalmasına bağlı olarak gelişen bir durumdur. İD, çevresel dokuların kandan glikoz alımının azalmasına sebep olmaktadır (2,9). İskelet kasları, yemek sonrası kan glikozunun %80'i civarında alımından sorumlu olduğu için, İD gelişiminde en hassas dokulardan biri olarak kabul edilmektedir (9). Kahn (9), İD'nin üç farklı lokasyonda (hücrenin reseptörüne bağlanmadan önce, bağlanma sırasında veya bağlanma sonrasında) meydana geldiğini belirtmiştir. Hücre reseptörüne bağlanmadan önce oluşan İD'nin insülinin; anti-insülin antikorlarına bağlanmasının artmasına veya dolaşımda serbest insülinin düşmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. İnsülin reseptöründeki bozulmalar veya hücre zarı boyunca sinyal hataları İD oluşumunda başka olasılıklardır. Fakat daha yaygın gözlenen direnç şekli, insülin reseptörünün otofosforilasyonunun azalmasıyla ilişkili olarak glukoz taşıyıcı GLUT4'ün hücre membranına translokasyonundaki anomaliler ve enzimatik aktivitedeki değişikliğin neden olduğu bağlanma sonrası sinyal taşınımının azalmasıyla oluşmaktadır (9).

1.4. Glisemik İndeks

Glisemik İndeks (Gİ), yemlerin belli bir zaman diliminde, kan glikoz seviyesini artırma potansiyeli baz alınarak, yemlerin standart bir yeme göre sınıflandırılmasında kullanılan ve yüzdelik olarak ifade edilen bir indekstir. Böyle bir terim kullanılmasının gerekliliği, Jerkins ve ark. (10) tarafından, karbonhidratların eşit miktarlarda tüketilmesine rağmen kan glikoz seviyeleri üzerinde çok farklı etkilere sahip olduğunun belirtilmesi üzerine ortaya atılmıştır. Bu terimin hayvan besleme literatürüne girmesi biraz zaman almış olmasına karşılık günümüzde zaman zaman üzerinde düşünülen/tartışılan bir konu olarak güncelliğini devam ettirmektedir (11-16).

$$\text{Glisemik indeks (\%)} = \frac{\text{Standart besin/yem için TCAA alanı}}{\text{Test yem/besin için TCAA alanı}} \times 100$$

İnsanlarda ve atlarda Gİ hesaplanırken standart besin maddesi olarak en çok glikoz kullanılmıştır ve glikozun Gİ değeri 100 olarak kabul edilmiştir (5,10). Araştırmacılar, glikozun standart yem olarak kullanılmasının sindirim kanalında bazı problemlere (yem tüketimini kısıtlama ve gastrik boşalmanın hızlanması) neden olduğunun belirlenmesiyle birlikte diğer yem maddelerine yönelmişlerdir. Bu yem hammaddelerinden en önemlileri; yulaf, mısır ve kuru ottur. Yulafın rasyonda fazla bulunması, nişastasının yavaş sindirilmesi, selüloz içeriğinin fazla olması ve daha birçok olumlu özelliğinden dolayı atlarda standart olarak kullanılması daha uygun görülmüştür (5, 15, 17). Yemlerden elde edilen Gİ değerleri birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte bu değişimin %10-15 olması normal kabul edilir. Bu çapta bir değişikliğin varlığı, yemlerin yüksek, orta ve düşük Gİ kategorilerine kolayca ayrılmasını zorlaştırmaktadır (15). Kronfeld ve ark. (5) ve Rodiek (17) yemleri, diyetisyenlerin önerdiğine benzer şekilde (Tablo 1); Yüksek Gİ (>70), orta Gİ (55-69) ve düşük Gİ'li (<55) şeklinde sınıflandırmıştır (10). Düşük Gİ değeri olan yemlerdeki karbonhidratlar daha yavaş sindirilir ve emilirken; yüksek Gİ değeri olan yemlerdeki karbonhidratların sindirim ve emilimi daha

hızlıdır. Bu yüzden yüksek GY'ye sahip yemlerde daha yüksek bir Gİ görülürken, düşük GY'ye sahip yemlerde daha düşük bir Gİ görülür (18).

Tablo 1. Atlarda kullanılan bazı yemlerin Gİ değerleri (5,15,16).

Table 1. GI values of some feed used in horses (5,15,16).

Yem Maddesi	Gİ	Standart	Yöntem
Yulaf (Tane)	100	Yulaf, Çayır Otu	SE, YKA
Arpa (Tane)	57.81	Glikoz, Yulaf	ŞNİ, SE
Glikoz	172	Yulaf	ŞNİ
Glikoz	100	Glikoz	ŞNİ
Tatlı Yem	129	Yulaf, Çayır	SE, YKA
Yulaf (Kabuksuz)	63	Glikoz	ŞNİ
Yonca (Yaş ot)	46	Çayır Otu	YKA
Yonca (Kuru ot)	20	Yulaf	SE
Mısır (Tane)	112	Yulaf	SE
Mısır (Kırılmış)	63.90	Glikoz, Çayır	ŞNİ, YA
Buğday Kepeği	62	Yulaf	SE

ŞNİ: Şeker ve nişasta içeriğine göre, YA: Yem ağırlığına, SE: Sindirilebilir enerji, Tatlı Yem: at beslemesinde sıkça kullanılan ve %42 yulaf, %31 mısır, %8 melas ve %19 ek konsantre yem takviyesinden oluşan bir yemdir.

2. Glisemik İndeks'i Etkileyen Faktörler

Nişasta ve şekerlerden elde edilen glikozun sindirimini ve emilimini çok sayıda faktör etkilemektedir. Dolayısıyla, nişasta ve şekerlerin içeriği, bir yemdeki GY/Gİ'nin tek göstergesi değildir. GY değerlerini etkileyen faktörler hayvana bağlı faktörler, yeme bağlı faktörler ve çevreye bağlı yöntemler olarak sınıflandırılmaktadır (18).

2.1. Hayvana Bağlı Faktörler

2.1.1. Irk

Hayvanın ırkı ve türünün İY ve GY'ı, dolayısıyla Gİ değerlerini etkilediği bildirilmektedir. Yapılan araştırmalar bazı metabolik farklılıklardan dolayı midillilerin, iri yapılı atlara (*Andalusian ve Standardbred*) göre İD'ye daha fazla yatkınlık gösterdiği belirtilmektedir.

Bu farklılıklar, midillerin doğal yaşamlarını sürdürdükleri alanlarda zor şartlara (engebeli arazi, soğuk iklim, sınırlı ve devamlı olmayan yem arzı) bağlı olarak zaman içerisinde kas hücrelerinde insüline dirençli bir mekanizma geliştirmelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (8,19). İD gelişmesiyle, kas hücreleri tarafından daha az kullanılabilen glikoz, karaciğere yönlendirilerek karaciğer glikoz-yağ metabolizmasının bozulmasına neden olur (2,9). Bu yüzden aşırı karbonhidrat verildiğinde hayvanlarda İD artarken, GY azalmaktadır. June ve ark. (20)'nin atlar, midilliler ve eşekler üzerinde yaptığı bir araştırmada, atlarda ve midillilerde insülin seviyeleri benzer olmasına karşılık kan glikoz pikinin, eşeklerden daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Bunun sebebinin, eşeklerin insülin hassasiyetinin, atlara ve midillilere göre daha düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

2.1.2. Yaş

Atların pankreasında bulunan β hücreleri, doğumdan hemen sonra fonksiyondur ve endojen veya ekzojen glukozu yanıt olarak insülin salgılar (21). Yapılan bir çalışma ile yetersiz fetal beslenmenin pankreastaki β hücrelerinin sayısını azalttığına ve dolayısıyla insülin sentezinde azalmaya (özellikle kronik olarak yüksek Gİ'li yem tüketiminde ve periferik insülin duyarsızlığı ile karşı karşıya kalındığında) neden olduğu belirtilmiştir (22). Prematüre ve geç doğan taylar, normal süreli doğan taylar ile karşılaştırıldığında bu durum daha belirgindir (23,24). Hayvanın yaşı ilerledikçe İY'nin düşmesine rağmen GY'nin değişmediği bildirilmektedir. Nielsen ve ark. (25), yaptığı bir çalışmada, genç (2 yaş) ve yaşlı (14 yaş) atların GY'leri arasındaki fark olmadığını buna rağmen genç atların, yaşlı atlara göre pik kan glikoz değerlerine daha yavaş ulaştığını belirtmiştir. Bunun temel nedeninin genç atların yem tüketim hız/oranı ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, olgun atlarda İD'ye bağlı olarak insülin yanıtının daha fazla olduğunu belirtmiştir. Rapson ve ark. (12) tarafından yaşın GY ve İY üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada da benzer sonuçlar elde etmiştir.

2.1.3. Cinsiyet

Yapılan literatür araştırmasında yetişkin ve yaşlı atlarda, GY ve İY değerleri üzerine cinsiyetin etkisinin araştırıldığı fazla çalışma bulunamamıştır. Yapılan bir çalışmada neonatal dönemde, glikoz klirensi (böbrekten glikoz atılımı) aynı olmasına rağmen doğumdan kısa bir süre sonrasında kadar dişi midillilerin β hücrelerinin glikoza yanıtının erkeklerle göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Fakat bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir (26).

2.1.4. Egzersiz

Egzersiz süresi ve yoğunluğu arttıkça GY ve İY değerleri azalmaktadır. Hafif egzersiz sırasında glikoz metabolizmasında herhangi bir değişiklik olmazken, ağır egzersiz sırasında karaciğerde depo edilen glikojen kullanılmakta ve kaslarda bulunan glikozun oksijensiz kullanımında artış olmaktadır (27,28). Yapılan bir çalışmada hafif egzersizin GY ve İY değerlerini yükselttiği bildirilmesine rağmen (27), başka bir çalışmada yoğun egzersizin, daha düşük GY ve İY meydana getirdiği belirtilmiştir (28).

2.1.5. Fizyolojik Durum

2.1.5.1. Gebelik ve Laktasyon

Gebelik sürecindeki atlarda, yavrulara glikoz sağlanabilmesi için glikoz metabolizmasında bir takım değişiklikler meydana gelmektedir. Atlarda GY ve İY üzerine gebeliğin etkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada, gebelik ilerledikçe, İY artarken, İD'nin geliştiği görülmüştür. Gebelik döneminde var olan İD fizyolojiktir ve fütüsa glikozun sağlanmasını kolaylaştırır. Bu etki ile vücut dokularında insülinin glikozun taşınmasında görevli olan GLUT4'ü aktive etme yeteneğini azaltmakta, böylece glikozun büyük çoğunluğunun fütüsa aktarılması sağlanmaktadır (29). Ayrıca gebelik döneminde İD; progesteron, östradiol, büyüme hormonu, plasental laktojen ve sitokinlerin insülini engelleyici ve postreseptör etkilerinden dolayı oluşmaktadır (29,30).

2.1.5.2. Sepsis

Septik şok, proinflamatuvar mediatörler ve karşı düzenleyici hormonların (glukagon, kortizol ve katekolaminler) serbest bırakılmasına yol açarak glikoz metabolizmasını olumsuz etkilemektedir. İnsanlarda, sepsis durumunda metabolik yanıt olarak, endojen glikoz üretiminin arttığı, insülin duyarlılığının azaldığı ve İD olduğu belirtilmektedir (31). Sepsis durumu ile karşılaşmış atlarda yapılan çalışmalar sınırlı düzeydedir. Jose-Cunilleras ve ark. (32) tarafından septik neonatal taylor üzerinde yapılan bir çalışmada, septik neonatal taylorlardaki GY değerleri, dinlenme halindeki yetişkin atlarda görülenlerden yaklaşık 3 kat fazla olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu hormonların septik taylorlarda görülen glikoz homeostazındaki değişikliklerdeki glikoregülasyonun bozulmasının, İD'den başka mekanizmalardan da etkileyebileceği göz önüne alınmalıdır.

2.1.6. Gastrik Boşalma Oranı ve Asitlik Derecesi

Glisemik indeksi etkileyen faktörlerden biri de gastrik boşalma düzeyidir. Mide asiditesinin düşmesi, gastrik boşalım hızını artırarak yemlerde bulunan glikozun daha az sindirim ve emilimine bağlı olarak Gİ değerini düşürmektedir. Çiğnemenin süresi ve miktarı yemin sindirimini ve emilimini dolaylı olarak etkilediği için aynı zamanda GY değerlerini de etkilemektedir (4).

2.2. Yeme Bağlı Faktörler

2.2.1. Karma Yemler

Atlarda yem hammaddelerinin genellikle karma yemler şeklinde tüketilmelerine izin verilmektedir. Yemlerin tek başına verilmesi veya karma yem içerisinde verilmesi ile GY, İY ve Gİ değerleri arasında farklılık oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalar ile genellikle yem maddelerinin GY ve İY bakımından birbirini tamamlayıcı özellik gösterdiği veya sindirim ve emilim sırasında sinerjetik etkiye sahip olduğu (yağlar diğer yem hammaddelerinin sindirimini artırır) belirtilmektedir (4,18).

2.2.2. Karbonhidrat Kaynağı ve Miktarı

2.2.2.1. Ham Selüloz İçeriği

Yemlerin ham selüloz (HS) içeriğinin yüksek olmasının, GY değerlerini azalttığını bildirmektedir (4). Yüksek HS içeriği, mide içeriğinin yoğunluğunu artırarak gastrik boşalmayı uzatması, nişastanın pankreatik amilaz ile olan etkileşimi geciktirmesi ve glikozu bağlayarak, ince bağırsakta bulunan glikoz miktarını düşürmesi vasıtasıyla bu etkisini gösterir (33).

2.2.2.2. Nişasta İçeriği

Nişasta, glikoz polimerler içeren, amiloz ve amilopektin olarak adlandırılan iki yapıdan oluşmaktadır. Amilozun, amilopektine oranı tahılın türüne göre değişmekle birlikte aynı tahılın farklı varyetelerinde (Amiloz/amilopektin oranı sırasıyla; uzun tip varyete 1.12, orta tip varyete 0.51, kısa tip varyete 0.49) de değişiklik göstermektedir. Nişastanın yapısındaki amilopektin içeriğinin artması, Gİ değerlerinin artmasına neden olurken, amiloz miktarının azalması Gİ değerlerini düşürmektedir (34).

2.2.3. Emilen Monosakkaritlerin ve Disakkaritlerin Çeşidi

Hayvanlar, yemler ile birlikte sadece glikoz değil aynı zamanda fruktoz, maltoz, laktöz gibi monosakkarit ve disakkaritleri de bünyelerine alırlar. Dinlenme halindeki atlarda yapılan bir çalışmada yemlere katılan yüksek miktarda fruktoz (Gİ: 30) ve glikozun (Gİ: 138) etkileri karşılaştırılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (35). Ayrıca fazla tüketilen fruktoz, Gİ'yi midenin boşalmasını hızlandırıcı etkisi vardır (36). Hayvan beslemede sıkça karşılaşılan diğer karbonhidratların Gİ değerine etkileri sırasıyla; maltoz (Gİ:105) ve sukroz (Gİ:75) olarak belirlenmiştir (36).

2.2.4. Rasyonun Yağ İçeriği

Özellikle performans atlarında, rasyonlara yağ ilavesinin gerekliliği görüşü giderek yaygınlaşmaktadır. Düşük karbonhidratlı ve yüksek yağlı rasyonlar, gastrik boşalmayı geciktirerek ve plazma serbest yağ

asitlerinin artışı destekleyerek, İY ve GY'yi azaltmaktadır (37,38).

2.2.5. Yemlerin İşleme Yöntemi

Yem işleme yöntemi, nişastanın sindirilebilirliğini ve emilebilirliğini artırdığı için GY ve İY etkilemektedir. Yem işleme yöntemleri etkilerini nişasta granüllerinin enzimlere karşı olan hassasiyetini artırarak gösterirler. Isı ile muamele edilmiş tane yemin, işlem görmemiş veya ezilmiş yulaflara kıyasla daha yüksek GY ve İY tepkisi bilinmektedir (4). Ayrıca yapılan bir çalışmada, Quinoa tanesinin çimlendirilmesi ve fermente edilmesiyle (fermentasyon ve çimlendirme ile çözünebilir karbonhidrat miktarının azalır) daha düşük Gİ değerleri gözlenmesine sebep olmuştur (39). Gİ değerini etkileyebilen yeme bağlı diğer faktörler; antinutrisyonel faktörlerin varlığı, önceki öğünün niteliği, amilolitik enzim ilavesi ve yemlerin partikül büyüklüğüdür. Antinutrisyonel madde varlığı ve partikül büyüklüğünün artmasıyla Gİ azalırken, amilolitik aktivite artışı Gİ'yi artırmaktadır (4).

2.3. Çevreye ve Metoda Bağlı Faktörler

2.3.1. Mevsim

Mevsimler atların metabolizması üzerine etkisinin olduğu bilinmektedir. Beythien ve ark. (40) tarafından atlarda yapılan bir çalışmada, kış aylarında atların GY değerlerinde (gebe kısıraklarda artış daha fazla) artış olduğu bildirilmektedir. Bunun sebebinin, gebe kısıraklarda İD varlığına bağlı olmakla birlikte bir diğer sebebin gebe kısırakların glikoz klirensinin daha az olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Yıl içerisinde GY'nin değişmesinin sebebi gebe olmayan atlarda yıl içerisinde hücrelerinin glikoz alımının değişmesine bağlı olarak artmasına bağlanmaktadır.

2.3.2. Glisemik İndeks Belirlemede Kullanılan Metod

GY ölçülürken üç metod kullanılmaktadır. Bu metodlar, atların tükettiği yemin miktarı, yemdeki kullanılabilir karbonhidrat miktarları, yemin sindirilebilir enerji miktarı şeklindedir (Tablo1). Bu

değerler ile hesaplanan yemler arasında bile farklılıklar oluşmaktadır (4).

3. Glisemik İndeks'in Hastalıklar Üzerine Etkisi

3.1. Obezite

Obezite birçok sindirimsel ve metabolik problemeye neden olan bir rahatsızlıktır. Özellikle spor atlarında önemi ön plana çıkmaktadır. Obezite ile İD arasındaki ilişki iki temel teori üzerine kuruludur. İlk teori, iskelet kası gibi insüline duyarlı dokularda hücreler arası lipidlerin birikmesi (lipotoksosite) sonucu İY'ın azalması ve buna bağlı olarak GY'nin artması sonucu obezite oluşmaktadır. Diğer teoriye göre ise yağ dokuda üretilen adipokinler ve sitokinler tarafından insülinin salınımının mekanizmasının bozulmasına bağlı olarak benzer mekanizma gerçekleşmektedir (41,42).

3.2. Laminitis

Laminitis, tırnak duvarının epidermal laminaları ile distal falanksın dermal laminaları arasındaki bağlantının bozulduğu, şiddetli ağrı ve topallığa neden olan metabolik bir rahatsızlıktır (3). Laminitis, atların aşırı nişasta ve şeker tüketimine bağlı olarak oluşmasının yanı sıra (43), tırnak hücrelerinde enerji eksikliği ile de ortaya çıkabilmektedir. Huntington ve ark. (44), tırnak ve onu besleyen kan damarlarında glikoz/insülin mekanizmasının normal şekilde çalışmadığı durumlarda laminitis görülebileceğini bildirmektedir.

3.3. Osteokondrozis

Osteokondroz, daha çok genç atları etkileyen kıkırdak dokuda meydana gelen bir gelişim bozukluğudur. Atlarda yüksek Gİ'li yemlerin vücut ağırlığının artışı nedeniyle osteokondroz gelişimi üzerine etkili olduğu bildirilmektedir (45). Bu yüzden obez atlarda osteokondrozis hastalığının insidensinin yüksek olması beklenmektedir (3).

3.4. Diğer Hastalıklar

Yüksek Gİ'li yem tüketimine bağlı olarak atlarda metabolik Sendrom ve Hipofiz Pars İntermedia Disfonksiyonu (HPİD) ve kalp-damar rahatsızlıklarının görülebilmeye ihtimali oldukça yüksektir (2,3).

SONUÇ

Sonuç olarak, atlar tarafından fazla miktarda glikoz alınmasının metabolik ve sindirimsel rahatsızlıklara sebep olduğu görülmektedir. Bu durum kanda ki glikozun ve insülinin vücut içerisinde seyrini ve etkilendiği faktörleri bilmenin gerekliliğini ön plana çıkarmaktadır. Bu derlemeden hareketle Gİ değeri, atlar için nişasta kaynaklarının tüketimi konusunda uyarıcı bir araç olduğu/olabileceği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. NRC, 2007. Energy. Nutrient Requirements of Horses: Sixth Revised Edition. Washington, DC: The National Academies Press. pp:33-43.
2. Kaczmarek K., Janicki B., Głowska, M., 2016. Insulin resistance in the horse: a review. J Appl Anim Res, 44, 424–430.
3. Ludwig DS., 2002. The glycemic index: physiological mechanism relating to obesity, diabetes and cardiovascular disease. JAMA, 287, 2414-2423.
4. Harris P., Geor RJ., 2009. Primer on dietary carbohydrates and utility of the glycemic index in equine nutrition. Vet Clin Nor Am: Equi Pract, 25, 23-37.
5. Kronfeld D., Rodiek A., Stull C., 2004. Glycemic indices, glycemic loads, and glycemic dietetics. J Equi Vet Sci, 24, 399-404.
6. Lui JL., Lan-Pidhainy X., Brummer Y., Tosh SM., Wood PJ., Wolever TMS., 2009. Effect of blood sampling schedule on the ability to discriminate between postprandial glycemic responses. Nutr, 25, 1064-1066.
7. Yeh ST., 2002. Using trapezoidal rule for the area under a curve calculation. Proceedings of the 27th Annual SAS® User Group International (SUGI'02).
8. Bamford NJ., Potter SJ., Harris PA., Bailey SR., 2014. Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses

- and ponies of moderate body condition score. *Dom Anim Endocrin*, 47, 101-107.
9. Kahn CR., 1978. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. *Metabolism*, 27, 1893-1902.
 10. Jenkins DJA., Wolever TMS., Taylor RH., Barker H., Fielden H., Baldwin JM., Bowling AC., Newman HC., Jerkins AL., Goff DV., 1981. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr*, 34, 362-366.
 11. Williams CA., Kronfeld DS., Staniar WB., Harris PA., 2001. Plasma glucose and insulin responses of Thoroughbred mares fed a meal high in starch and sugar or fat and fiber. *J Anim Sci*, 79, 2196-2201.
 12. Rapson JL., Schott HC., Nielsen BD., McCutcheon LJ., Harris PA., Geor RJ., 2018. Effects of age and diet on glucose and insulin dynamics in the horse. *Equi Vet J*, 50, 690-696.
 13. Wagner A., DeLano K., Jenkins B., McIntosh B., Girard I., Medina B., 2018. PSXVI-2 Impact of DigestaWell® NRG on the insulinemic and glycemic responses of performance horses. *J Anim Sci*, 96, 253-253.
 14. Owens T., Gargano V., Mansilla W., Merkies K., Shoveller A. 2018. Effects of steaming or soaking hay on acute glycemic response in Standardbred racehorses. *J Anim Sci*, 96, 56-56.
 15. Hoffman RM., 2009. Carbohydrate metabolism and metabolic disorders in horses. *R Bras Zootec*, 38, 270-276.
 16. Radulian G., Rusu E., Dragomir A., Posea M. 2009. Metabolic effects of low glycaemic index diets. *Nutr J*, 8, 5.
 17. Rodiek A., 2006. Glycemic index of practical horse feeds. Agricultural Research Institute Publication, California Agricultural Technology Institute, California State Univ, Fresno, 00-2-034-1B.
 18. Vervuert I., Coenen M., 2006. Factors affecting glycaemic index of feeds for horses. Proceedings of the 3rd European Equine Nutrition & Health Congress, Ghent University, Merelbeke, Belgium.
 19. Bailey SR., Bamford NJ., 2013. Metabolic responses of horses and ponies to high and low glycaemic feeds: implications for laminitis. *Anim Produc Sci*, 53, 1182.
 20. June V., Soderholm V., Hintz HF., Butler WR., 1992. Glucose tolerance in the horse, pony and donkey. *J Equi Vet Sci*, 12, 103-105.
 21. Holdstock NB., Allen VL., Fowden AL., 2012. Pancreatic endocrine function in newborn pony foals after induced or spontaneous delivery at term. *Equi Vet J*, 44, Suppl, 30-37.
 22. Desai M., Crowther NJ., Ozanne SE., Lucas A., Hales CN., 1995. Adult glucose and lipid metabolism may be programmed during fetal life. *Biochem Soc Transact*, 23, 331-335.
 23. Fowden AL., Ellis L., Rosedale PD., 1982. Pancreatic beta cell function in the neonatal foal. *J Repro Fertil*, 32, 529-535.
 24. Fowden AL., Gardner DS., Ousey JC., Giussani DA., Forhead AJ., 2005. Maturation of pancreatic beta cell function in the fetal horse during late gestation. *J Endocrinol*, 186, 467-473.
 25. Nielsen BD., O'Connor-Robison CI., Spooner HS., Shelton J., 2010. Glycemic and insulinemic responses are affected by age of horse and method of feed processing. *J Equi Vet Sci*, 30, 249-258.
 26. Jellyman JK., Valenzuela OA., Allen VL., Holdstock NB., Fowden AL., 2014. Sex-associated differences in pancreatic β cell function in healthy preweaning pony foals. *Equi Vet J*, 46, 722-728.
 27. Powell DM., Reedy SE., Sessions DR., Fitzgerald BP., 2002. Effect of short-term exercise training on insulin sensitivity in obese and lean mares. *Equi Vet J*, Suppl. (34), 81-84.
 28. Lawrence LM., Soderholm LV., Roberts A., Williams J., Hintz H., 1993. Feeding status affects glucose metabolism in exercising horses. *J Nutr*, 123, 2152-2157.
 29. George LA., Staniar WB., Cubitt TA., Treiber KH., Harris PA., Geor RJ., 2011. Evaluation of the effects of pregnancy on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose dynamics in Thoroughbred

- mares. *Am J Vet Res*, 72, 666-674.
30. Catalano PM., 2010. Obesity, insulin resistance, and pregnancy outcome. *J Repr*, 140, 365-71.
31. Chambrier C., Laville M., Rhzioual-Berrada K., Odeon M., Bouletreau P., Beylot M., 2000. Insulin sensitivity of glucose and fat metabolism in severe sepsis. *Clin Sci (London)*, 99,321-328.
32. Jose-Cunilleras E., Hinchcliff KW., Nout YS., Geor RJ., 2008. Glucose metabolism in five septic neonatal foals. *J Vet Em and Critic Care*, 18, 404-408.
33. Carslake HB., Argo CM., Pinchbeck GL., Dugdale AHA., McGowan CM., 2018. Insulinaemic and glycaemic responses to three forages in ponies. *Vet J*, 235, 83-89.
34. Dipnaik K., Kokare P., 2017. Ratio of amylose and amylopectin as indicators of glycaemic index and in vitro enzymatic hydrolysis of starches of long, medium and short grain rice. *J Res Med Sci*, 5, 4502-4505.
35. Vervuert I., Coenen M., Bichmann M., 2004. Comparison of the effects of fructose and glucose supplementation on metabolic responses in resting and exercising horses. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 51, 171-1777.
36. Ozaki RKF., Speridiao PDGL., Soares ACF., Morais MBD. 2018. Intestinal fructose malabsorption is associated with increased lactulose fermentation in the intestinal lumen. *Jornal Pediatr*, 94, 609-615.
37. Bochnia M., Schürer C., Gottschalk J., Einspanier A., Hillegeist D., Wensch-Dorendorf M., Greef JM., Glatter M., Zeyner A., 2017. Effects of isoenergetic quantities of a low-starch muesli feed high in fat and fibre vs. oat grains on the glycaemic and insulinemic responses and feed intake patterns in sport ponies. *J Anim Phy and Anim Nutr*, 101, 43-50.
38. Summers SA., 2006. Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog Lipid Res*, 45, 42-72.
39. De Oliveira Lopes C., Barcelos MDFP., de Goes Vieira CN., de Abreu WC., Ferreira EB., Pereira RC., de Angelis-Pereira MC., 2019. Effects of sprouted and fermented quinoa (*Chenopodium quinoa*) on glycaemic index of diet and biochemical parameters of blood of Wistar rats fed high carbohydrate diet. *J Food Sci Technol*, 56, 40-48.
40. Beythien E., Wulf M., Ille N., Aurich J., Aurich C., 2017. Effects of sex, pregnancy and season on insulin secretion and carbohydrate metabolism in horses. *Anim Repro Sci*, 184, 86-93.
41. Tadros EM., Frank N., 2013. Endocrine disorders and laminitis. *Equi Vet Educ*, 25,152-162.
42. Lindase SS., Nostell KE., Müller CE., Jensen-Waern M., Bröjer JT., 2016. Effects of diet-induced weight gain and turnout to pasture on insulin sensitivity in moderately insulin resistant horses. *Am J Vet Res*, 77, 300-309.
43. Longland AC., Byrd BM., 2006. Pasture nonstructural carbohydrates and equine laminitis. *J Nutr*, 136, 2099S-2102S.
44. Huntington P., Pollitt C., McGowan C., 2009. Recent research into laminitis. *Adv in Equi Nutr*, 6, 293.
45. Boado A., Lopez-Sanroman FJ., 2016. Prevalence and characteristics of osteochondrosis in 309 Spanish Purebred horses. *Vet J*, 207, 112-117.

YAZARLARA BİLGİ

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.
2. Bu dergide, Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmış ve daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış Temel Veteriner Bilimleri (Anatomi, Biyokimya, Fizyoloji, Histoloji, Mesleki Etik ve Deontoloji), Klinik Öncesi Veteriner Bilimleri (Farmakoloji ve Toksikoloji, Mikrobiyoloji, Parazitoloji, Patoloji, Viroloji), Klinik Veteriner Bilimleri (İç Hastalıkları, Cerrahi, Doğum ve Jinekoloji, Dölerme ve Suni Tohumlama), Zootekni ve Hayvan Besleme Bilimleri (Biyostatistik, Genetik, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları, Hayvancılık İşletme Ekonomisi, Zootekni), Hayvansal Orjinli Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Egzotik Hayvanlar Bilimi ve Laboratuvar Hayvanları Bilimi alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu ve davetli veya editörün onayı alınmış derlemeler yayımlanır.
3. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne yayımlanması amacıyla gönderilen makale ile ilgili olarak; yazarlar gerekli olan (klinik, deneysel çalışmalar vb.) etik kurulu onayı aldıkları kurum ve onay numarasını makalenin Materyal ve Metot kısmına yazmalıdırlar. Yayın kurulu eğer isterse etik kurul onay belgesini isteyebilir.
4. Yazarlar, başka kaynaklardan alınan ve kullanılan materyal ile ilgili telif hakkı şartlarına uymak ve telif hakkının dergiye devrini ifade eden sözleşmeyi imzalamakla yükümlüdürler. Dergide yer alan yazılardan doğacak her türlü sorumluluk yazar(lar)ına aittir.
5. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nca belirtilen "İhbarı Mecburi Hastalıklar" ile ilgili makalelerin değerlendirmeye alınabilmesi için T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan alınmış izin yazısının Dergi Editörlüğüne sunulması zorunludur.
6. Makaleler değerlendirme için en az iki hakeme gönderilir. Makalenin yayına kabulü, hakemlerin ve dergi editörlüğünün kararına bağlıdır.
7. Sorumlu yazar Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisine yayımlanmak üzere göndereceği makale ile birlikte "**Makale Kontrol Formu**"nu da göndermek zorundadır.
8. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi' ne gönderilen makalelerde, makale değerlendirme süreci başladığı andan itibaren, makalede yazar ismi değişikliği ve isim sıralaması değişikliği yapılmaz.
9. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne ulaşan makale ve makale kontrol formu, dergi editörlüğünce ön değerlendirmeye tabi tutulur. Editörlük, ön değerlendirme sonucuna göre makaleyi reddetme veya hakem değerlendirmesine tabi tutmadan önce düzeltme isteme hakkına sahiptir.

10. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nin etik politikası gereği intihale müsamaha gösterilmemektedir. Dergiye gelen tüm makaleler, intihal denetleyicisi yazılımı kullanılarak kontrol edilmektedir.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. Makaleler, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, şekil, tablolar ve kaynaklarda dahil olmak üzere sayfa sayısı orijinal bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde 16, olgu sunumu gibi kısa bilimsel çalışmalarda ise 5 sayfayı geçmemelidir.

2. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, Calibri karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.

3. Makaleye satır numaraları (makalenin 2. sayfasından başlamak üzere sürekli olacak şekilde) ve sayfa numaraları (sayfa altında ve ortalı) eklenmelidir.

4. Makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje, vb.) makale başlığının sonuna üst simge olarak * işareti konulup makale başlığı altında italik yazıyla açıklanmalıdır.

5. Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

Orijinal Bilimsel Araştırma Makaleleri İçin:

Birinci Sayfa: makalenin birinci sayfası başlık, yazar isimleri ve adresleri, yazarların e-posta adresleri, sorumlu yazar iletişim bilgileri ve eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgidir oluşmalıdır.

Başlık: Türkçe ve İngilizce başlıklar sadece ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Makalenin dili Türkçe ise önce Türkçe sonra İngilizce başlık, makalenin dili İngilizce ise önce İngilizce sonra Türkçe başlık yazılmalıdır.

Yazar İsimleri ve Adresleri: Yazar(lar)'ın adı ve soyadının (akademik ünvanlı) sadece baş harfleri büyük ve başlığın altına ortalı gelecek şekilde yazılmalıdır. Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli, yazarların isminin sağ üst köşesine sayı eklenmeli ve bu sayılar adresler bölümünde kullanılmalıdır. Yazarların adresinde; bağlı olduğu kurum, birim, şehir ve Ülke belirtilmelidir.

Yazarların e-posta Adresleri: makalede ismi bulunan tüm yazarların ismi ve e-posta adresleri yazılmalıdır.

Sorumlu Yazar İletişim Bilgileri: Makalenin sorumlu yazarına ait isim-soyisim, e-posta, adres, telefon, GSM ve fax numaralarını içeren bilgiler yazılmalıdır.

Makale ile İlgili Açıklayıcı Bilgi: Eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje vb.) birinci sayfanın sonunda italik yazıyla açıklanmalıdır.

İkinci Sayfa: Makalenin ikinci sayfası Türkçe özet ve anahtar kelimeler ile İngilizce özet ve anahtar kelimeleri içermelidir. Makale yazım dili Türkçe ise öncelikli olarak Türkçe özet ve anahtar kelimeler; eğer makale yazım dili İngilizce ise öncelikli olarak İngilizce özet ve anahtar kelimeler sunulmalıdır.

Özet: Kısaca amaç, materyal, metot, bulgular ve sonuçları içermelidir. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 kelime arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Anahtar kelimeler “Türkiye Bilimleri Terimleri” nden seçilmelidir (<http://www.bilimterimleri.com/tr-index.html>). En fazla 5 adet olmalıdır. Türkçe anahtar kelimeler Türkçe’ye göre, İngilizce anahtar kelimeler İngilizce’ye göre alfabetik olarak sıralanmalıdır. Her anahtar kelime arasına (,) işareti konulup, sonuncu anahtar kelimedenden sonra (.) işareti konulmalıdır.

Üçüncü Sayfa: Makale üçüncü sayfadan itibaren “GİRİŞ”, “MATERYAL ve METOT”, “BULGULAR”, “TARTIŞMA ve SONUÇ” ve “KAYNAKLAR” bölümleri halinde tamamlanmalıdır. Bulgular ve tartışma birlikte verilebilir. Gerekli olduğu takdirde, teşekkür de eklenebilir. Bölüm başlıkları büyük harflerle yazılmalıdır. Bölümlere ait alt başlıklar yalnız ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Tüm başlıklar koyu tonda ve 12 punto ile satırbaşı hizasında yazılmalıdır.

İstatistiksel Analiz bilgileri: makalenin MATERYAL ve METOT bölümünün sonunda “İstatistiksel Analiz” başlığı altında verilmelidir.

Birimler ve Kısaltmalar: Her bir kısaltmanın açılımı metinde ilk geçtiği yerde verilmelidir. Birimler ve ölçülerde Uluslar Arası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır. Cins ve tür isimleri italik olarak yazılmalıdır. Makale içerisinde kullanılan rakamsal ve istatistiksel verilerde nokta kullanılmalıdır (örnek: 44.5; 0.82; % 97.7; $P < 0.01$ vb.).

Tablo ve Şekiller: Tablo ve Şekiller ana dökümandan ayrı olarak gönderilmelidir. Tablolar Dikey sayfa olanlar genişlik 7 cm’ye sığacak şekilde en fazla 35 satır, yatay sayfaya 15 cm’ye sığacak şekilde en fazla 25 satır olmalıdır. Şekiller bulanık olmayacak şekilde, jpeg, tiff, bmp veya gif formatında ve en az 150 dpi çözünürlükte hazırlanmalı, şekil üzerine yazılan yazılar ve işaretlemeler aynı şekilde resim işleme programlarında (Photoshop, paint vs.) “Calibri” fontu ile 12 puntoyu geçmemesi gerekmektedir. Grafikler resim formatında değil doc, docx, xls veyaxlsx formatında hazırlanmalıdır. Şekil, grafik, fotoğraf ve resimler başlıklarda ve metin içerisinde Şekil olarak ifade edilmelidir. Şekil ve tablolar metin içerisindeki sırasına göre numaralandırılmalı ve metin içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Örn; Şekil 1, Tablo 1). Tablo ve şekillerin başlık ve açıklamaları hem Türkçe hemde İngilizce olarak eklenmelidir. Tablo ve şekillerde kullanılan her türlü kısaltma tablo ve şekil altında açıklanmalıdır.

Sonuç: Makaleye ait elde edilen/varılan sonuç, “TARTIŞMA ve SONUÇ” kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafı belirtmelidir.

Olgu Sunumları İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 120'den daha az olmamalı ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Üçüncü sayfadan itibaren "GİRİŞ", "OLGU SUNUMU" (olgu sunumu başlığı altında materyal, metot ve bulgulardan bahsedilmelidir) "TARTIŞMA ve SONUÇ" ve "KAYNAKLAR" şeklinde tamamlanmalıdır.

Olgu sunumu içerisinde eğer varsa İstatistiksel analiz bilgileri, birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Olgu sunumuna ait elde edilen/varılan sonuç, "TARTIŞMA ve SONUÇ" kısmının sonunda "sonuç olarak..." ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

Derlemeler İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Derlemeler için hazırlanan özet derlemenin konusu hakkında bilgi ve derlemenin amacından oluşmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Derleme üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ ile başlamalı, yazar/lar tarafından belirlenecek ara başlıklarla devam etmeli, SONUÇ ve KAYNAKLAR ile tamamlanmalıdır.

Derleme içerisinde eğer varsa birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Derlemeye ait sonuç, KAYNAKLAR bölümünden hemen önce SONUÇ başlığı altında belirtilmelidir.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne yayımlanmak üzere gönderilen derlemenin sorumlu yazarının derlemenin konusu ile ilgili en az 3 (üç) adet makalesinin olması gerekmektedir. Sorumlu yazar, derlemesini gönderirken konu ile ilgili makalelerinin de künye bilgilerini dergi editörlüğüne göndermelidir (makale künyeleri, makale metninin en son sayfasında sunulmalıdır)

Kaynaklar

Kullanılan kaynak sayısı olgu sunumları için 10'dan az, araştırma makaleleri için 20'den az ve tüm makale türleri için 45'den fazla olmamalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kullanılan kaynakların (makalenin gönderildiği yıl baz alınarak) en az üçte birlik kısmı son 3 yıla ait olmalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kaynaklar aşağıda belirtildiği şekilde sunulmalıdır:

Metin içerisinde:

Metin içerisinde kaynaklara 1'den başlamak üzere numara verilmelidir ve bu numaralar (1), (1,2), (1,4-7,13) şeklinde parantez içerisinde belirtilmelidir. Yazar isminin kullanılacağı yerlerde ise yazarın soyadı ve parantez içerisinde kaynağın numarası Aktaş (22), Aktaş ve ark. (13) örneklerinde olduğu gibi yazılmalıdır.

Kaynaklar Bölümünde:

Metin içerisinde numaralandırılan kaynaklar, makalenin kaynaklar bölümünde numaralarına göre sıralandırılmalıdır.

Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin isminin kısaltması kullanılmalıdır.

Kaynak makale ise; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect Immun*, 69, 4657-4660.

Kaynak kitap ise; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th ed., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

Kaynak kitapta bir bölüm ise; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, 6th ed., 230-250, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Kaynak bir tez ise; Aktaş MS., 2005. Köpeklerde antibiyotiklerin neden olduğu ishallerde probiyotiklerden *Saccharomyces boulardii*'nin etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.

Kaynak bir kuruluşün yayını ise; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

Kaynak bir yazılım ise; SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th ed., Sas Institute, Cary.

Web tabanlı kaynaklar kullanılmamalıdır.

MAKALENİN GÖNDERİLMESİ

Makale online sistem (<http://dergipark.gov.tr/ataunivbd>) aracılığıyla dergi editörlüğüne gönderilmelidir.

DERGİ BASKISI

Kabul edilen çalışmalar **ücretsiz** basılacaktır.

Yazarlara ayrı baskı gönderilmeyecektir.

Sorumlu yazara makalenin basıldığı sayıdan bir örnek ücretsiz olarak gönderilir.

2018 yılından itibaren, derginin baskısı siyah-beyaz olarak yapılacaktır. Makalelerinde renkli resim/figür/şekil bulunan yazarlar, renkli baskı istemeleri halinde, gerekli ücreti ödemeleri halinde bu istekleri yerine getirecektir.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

- 1.** Atatürk University Journal of Veterinary Sciences is a refereed scientific publication organ of Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. The abbreviation of the journal's title is "Atatürk University J. Vet. Sci."
- 2.** Original research papers, case reports and invited or Editor-approved reviews to be submitted should be prepared either in Turkish or in English, must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal, within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments, i.e. Basic Veterinary Sciences (Anatomy, Biochemistry, Physiology, Histology, Occupational/Professional Ethics and Deontology), Preclinical Veterinary Sciences (Pharmacology and Toxicology, Microbiology, Parasitology, Pathology, Virology), Clinical Veterinary Sciences (Surgery, Internal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Reproduction and Artificial Insemination), Animal Science and Nutritional Sciences (Biostatistics, Genetics, Animal Nutrition and Nutritional Disorders, Animal Enterprises Economy, Animal Science), Animal-Originated Food Hygiene and Technology, with, exotic animal science and laboratory animals, are published in this journal.
- 3.** Ethics committee approval (clinical, experimental, etc.), institution, and approval number are required for the article sent to Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must be specified in the Material and Method section of the article. The editorial board may also request an ethics committee approval document when deemed necessary.
- 4.** Authors are responsible for complying with the copyright conditions related with the material cited (taken) from other resources or used and signing the agreement contract declaring transfer of the copyright to the journal. The full responsibility of the texts to be appeared within the journal belongs to the author(s).
- 5.** Manuscripts to be considered are sent to the two referees at least. Acceptance of the manuscripts depends on both suggestion of the referees and final decision of the Editorial Board.
- 6.** The responsible author has to send the "Article Check List" along with the article to be sent to Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication.
- 7.** We will not be able to make any changes to the author names (adding/removing authors, change of order of authors) at the article send to Atatürk University Journal of Veterinary Science from the moment the paper evaluated process begins
- 8.** Article and article check list reaching Atatürk University Journal of Veterinary Sciences Editor is subject to preliminary evaluation by a journal editor. The editorial has the right to refuse the article according to the preliminary evaluation result or to request a correction before subjecting it to the referee evaluation.

9. According to the ethics policy of Atatürk University Journal of Veterinary Sciences, plagiarism is not tolerated. All manuscripts received are checking using plagiarism checker software.

MANUSCRIPT PREPARATION

1. Manuscripts should be written in A4-sized paper (one-sided), double-spaced, with 3 cm space from the margins of the paper and should not exceed 16 pages for original scientific researches and reviews or 5 pages for short scientific studies such as case reports.
2. Manuscript should be prepared using Microsoft Word 6.0 or upper versions, in Calibri characters with 12 point typing size.
3. Line numbers (be started from the 2nd page onwards) and page numbers (at the middle of the bottom of the page) should be given in the manuscript.
4. Details (thesis, project, etc.) related with the manuscripts should be given at the end of the title of the manuscript with the sign of superscript (*) with further explanation below the title in italic format.
5. Trademarks of substances (materials) and products of the subject of the study should not be used.

For Research Articles:

First page: The first page of the manuscript should contain title, authors' name-surname and addresses, e-mail addresses of the authors, corresponding authors' explanatory details related with the manuscripts, if any.

Title: Titles in Turkish and English should be written in small letters with only the first letter to be in capital. In case of the Turkish language of the main text, firstly titles in Turkish then in English should be given, while the opposite should be given for manuscripts written in English.

Names of authors and addresses: The first letters of name and surnames (without academic titles) of author(s) should be written in capital and aligned at the middle below the title. Corresponding author (*) should be pointed, a value should be added as a superscript at the right and these values should be used in the section of addresses. In that section, the body/authority, unit/department, city and country of the authors should be described.

E-mail addresses of the authors: All the names and e-mail addresses of authors mentioned within the manuscript should be written.

Contact details of the corresponding author: The name-surname, e-mail, address, phone, mobile and fax numbers of the corresponding author should be written.

Explanatory details of the manuscripts: If any, the explanatory details (thesis, project, etc.) should be written in *italic* letters at the end of the first page.

Second page: The second page of the manuscript should contain summary in Turkish and English with key words each. If the language of the main text is in Turkish, the summary and the key words should first be in Turkish while the opposite should be given for those manuscripts written in English.

Summary: Briefly, it should contain the aim, material, method, results and conclusions. The number of word to be used should be between 170-200 words and be written in single-space.

Key words: The number should be 5 at maximum in the alphabetic order of the language used either in Turkish or in English. Between each of the words, a comma (,) sign should be put while a full stop (.) sign should be put at the end of the last one.

Third page: From this page onwards, the manuscript should continue with the sections of INTRODUCTION, MATERIALS and METHODS, RESULTS, DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES in the following order. The sections of results and discussion may be given together. A section of acknowledgement may also be added, if needed. Section titles should be written in capital letters. Sub-headings of the sections should be written with the first letters in capital only and aligned with the beginning of paragraph. All the headings should be written in black 12-point typing-size and aligned with the beginning of paragraph.

Data from Statistical analyses: This section should be given at the end of MATERIALS and METHODS section and under the title of “Statistical Analysis”.

Units and Abbreviations: The meaning of each abbreviation should be given where it appears first. For units and measurements, International Standard units (SI-system) should be used. The names of genus (breeds) and species should be written in italic style. For numerical and statistical values, full stop (.) sign should be used (e.g. 44.5; 0.82; 97.7 %; P<0.01, etc.).

Tables and Figures: Figures, graphics, photos and pictures/plates within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (e.g. Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations used within tables and figures should be explained below them.

Conclusion: The ultimate result obtained should be described as “In conclusion,…” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Case Reports:

The first and second pages should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The number of words to be used in summary should not be less than 120 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, INTRODUCTION, CASE REPORT (materials, methods and results should be mentioned under the title of case report) should be followed by DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES.

If any, data from the statistical analysis, units and abbreviations, tables and figures should be presented as given for scientific research manuscripts.

For case report, the ultimate result obtained should be described as “In conclusion,...” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Reviews:

The first and second pages of reviews should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The summary should involve data on the subject and aim of the review. The number of words used in summary should be between 170-200 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, reviews should start with introduction, continue with subheadings to be determined by the author(s) and be completed with CONCLUSION and REFERENCES.

If any, the units and abbreviations, tables and figures within the review should be presented as given for scientific research manuscripts.

For reviews, the ultimate result should be described as CONCLUSION section in a single paragraph just before the section for REFERENCES.

The corresponding author of the compilation sent to the Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must have at least 3 articles on the subject of the compilation. The corresponding author must send the citation information of relevant articles related to the subject along with his/ her article (relevant article citations must be presented on the last page of the article)

References

The number of resources used must not be less than 10 for case reports, less than 20 for research articles, and more than 45 for all article types.

Regardless of the type of article (original research article, case report, compilation), at least one-third of the resources used (based on the year the article was submitted) must belong to the last three years.

Regardless of the type of manuscript (original research paper, case report, review), references should be given, as follows:

For Text section:

Within the text, reference numbers should be given as numbers starting from 1, and these numbers should be indicated within the brackets as (1), (1,2), and/or (1,4-7,13). Where the name of the author is to be given, the surname of the author and reference number should be written as Aktas (22), and/or Aktas et al. (13).

For References section:

The references given within the text should be given as numbers in numerical order within the reference section.

For writing the scientific journals, its international title recommended by the journal should be used. The journal title abbreviation must not be used.

For manuscripts; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infection and Immunity*, 69, 4657-4660.

For books; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th edn., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

For chapters of a book; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In “Textbook of Veterinary Internal Medicine”, Ed., SJ Ettinger, 6th edn., 230-250, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

For theses; Aktas MS., 2005. Efficacy of *Saccharomyces Boulardii* as a probiotic in Dogs with lincomycin induced diarrhoea. Ankara University, Graduate School Health Science, Turkey.

For publications of a Foundation; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

For softwares; SAS, 1990. SAS user’s guide: Statistics, 4th edn., SAS Institute, Cary.

Web-based references should not be used.

MANUSCRIPT SUBMISSION

The article must be sent to the journal editor through online system (<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ataunivbd/>).The file names of original manuscripts and tables should involve a “.doc” extension.

Figures (graphs, photos, figures and pictures/plates) should be submitted, as a separate file, in JPEG format with 300 DPI resolutions.

JOURNAL'S PRESS

Articles accepted for publication will be published free of charge.

No offprints will be sent to the authors.

A copy of the issue of the journal with the article is sent for free to the corresponding author of the article.

From 2018 on, the print of the journal will be done in black and white. Authors who have colored pictures / figures / figures in their articles, in the case of color printing requests, this demand will be fulfilled in case of payment of the necessary fee.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ
YAYIN HAKLARI DEVRİ SÖZLEŞMESİ

Makale Türü: () Araştırma () Derleme () Olgu Sunumu () Diğer
Makale Başlığı:.....
.....

Biz türü ve başlığı yukarıda belirtilmiş makalenin yazarları olarak; Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi yazım ve yayın şartlarını bilerek ve kabul ederek hazırlayıp yayımlanması dileğiyle Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne gönderdiğimiz makalenin orijinal olduğunu, kısmen veya tamamen daha önce yayımlanmadığını veya eşzamanlı olarak başka bir yayın kuruluşuna gönderilmediğini, makale yayımlandıktan sonra ortaya çıkabilecek her türlü bilimsel ve etik sorumluluğun bize ait olduğunu ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nin hiçbir sorumluluk taşımayacağını, danışman ve dergi editörü tarafından gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı tarihten itibaren Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ederiz.

Bununla birlikte yazarların telif hakkı dışında kalan patent vb. tescil edilmiş hakları, yazarların kitap ve dersler gibi çalışmalarında makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanım hakkı, ticari amaçla kullanmamak üzere makaleyi çoğaltma hakkı saklıdır.

Yazarın Adı ve Soyadı (Makaledeki İsim Sırasına Göre)	İmza	Tarih
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

Sorumlu Yazar

Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

Not: Lütfen formu doldurduktan sonra e-posta adreslerimizden herhangi birine gönderiniz.

DERGİ ADRESİ

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü, 25240 Kampüs/ERZURUM-TÜRKİYE

Tel: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-posta: veterdergisi@atauni.edu.tr/ atavetderg@hotmail.com

ATATÜRK UNIVERSITY JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES
COPYRIGHT DECLARATION FORM

Type of Manuscript: () Research () Review () Case Report () Other
Title of Manuscript:.....
.....

We, as the authors of manuscript having type and title aforegiven, declare that; i) this manuscript submitted to The Editor of Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication, as prepared in complying with the instructions for authors, is original, ii), it has not been published partially or totally or submitted synchronously to other publishing body, iii) all the possible scientific and ethical responsibilities, without any further responsibility of The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences at all, following the publication of manuscript are belong to us, iv) we transfer all the copyrights along with the corrections recommended by the advisor and Editor to The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences following the date of publication of the manuscript.

However, other than the copyright conditions described; i) the authenticated rights (such as patent), ii) the right of use of the manuscript, totally or partially, for scientific activities such as books and lectures, with no charge and iii) dissemination of the manuscript by the authors without commercial purposes are all reserved.

	Name and Surname of the author (in the manuscript's order)	Signature	Date
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			

Corresponding Author

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:.....Signature:.....

Note: Please send the form to either of our e-mail addresses after filling in the blanks.

JOURNAL'S ADDRESS

Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences, The Editor of Atatürk University J. Vet. Sci., 25240-Campus/Erzurum-TURKEY

Phone: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-mail: vetdergisi@atauni.edu.tr or atavetderg@hotmail.com