

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Dergisi



SBE

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ARALIK/DECEMBER 2020
CİLT/VOLUME 8
SAYI/ISSUE 3

Mehmet Akif Ersoy University
Journal of Health Sciences Institute

E-ISSN: 2148-2837

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ
Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute

Sahibi / Owner

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi adına Rektör
(On behalf of Mehmet Akif Ersoy University)

Prof. Dr. Adem KORKMAZ

Editör / Editor in Chief

Prof. Dr. Mustafa Doğa TEMİZSOYLU

Editör Yardımcıları / Assoc. Editors

Doç. Dr. Erhan KEYVAN

Dr. Öğr. Üyesi Hıdır GÜMÜŞ

Dr. Öğr. Üyesi Kamil ATLI

Yayın Türü / Publication Type

Yerel Süreli Yayın / Local Periodical Publication

Kapak-Dizgi / Cover –Design

Doç. Dr. Erhan KEYVAN

Mizanpaj / Layout

Dr. Öğr. Üyesi Emine Hilal ŞENER

Yayın Kurulu Sekreteri / Secretary of Editorial Board

Dr. Öğr. Üyesi Canan DEMİR BARUTÇU

İletişim Adresi / Correspondence Address: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi Sekreterliği 15030 - BURDUR

Telefon: +90 248 2133181 **Faks:** +90 248 2133190 **E-posta:** sagbild@mehmetakif.edu.tr

Web Adresi: <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/maeusabed/>

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi yılda 3 sayı olarak yayımlanır (Aralık-2019 itibariyle). Dergi, DOAJ, Google Scholar, SciLib, Researchbib, SOBIAD, Türkiye Atıf Dizini gibi ulusal ve uluslararası indeksler tarafından taranmaktadır.

Yayın Kurulu / Advisory Board

Prof. Dr. Ender YARSAN

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Calogero STELLETTA

University of Padua Department of Animal Medicine

Prof. Dr. Mahmut OK

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Prof. Dr. Lenka VORLOVÁ

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology
Department of Milk Hygiene and Technology

Prof. Dr. Ali BUMİN

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı

Prof. Dr. M. Bozkurt ATAMAN

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

Prof. Dr. Iva STEINHAUSEROVA

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology
Department of Meat Hygiene and Technology

Prof. Dr. Zülfikar Kadir SARITAŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı

Prof. Dr. F. Seda BİLİR ORMANCI

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Aynur BAŞALP

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Sağlık Yönetimi Bölümü

Prof. Dr. Hüseyin ERDEM

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

Assoc. Prof. Dr. Rosen DIMITROV

Trakia University Faculty of Veterinary Medicine Department of Anatomy

Doç. Dr. Levent ALTINTAŞ

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Assoc. Prof. Dr. Mihai C. CENARIU

University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Faculty of Veterinary Medicine,
Department of Animal Reproduction

Doç. Dr. Ali Doğan ÖMÜR

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

Dr. Marta STANIEC

University of Life Sciences in Lublin Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases

Editör Kurulu / Editorial Board

Prof. Dr. M. Doğa TEMİZSOYLU

Doç. Dr. Erhan KEYVAN

Doç. Dr. Ramazan YILDIZ

Doç. Dr. Şükrü GÜNGÖR

Dr. Öğr. Üyesi Hıdır GÜMÜŞ

Dr. Öğr. Üyesi Cevat SİPAHİ

Dr. Öğr. Üyesi Burcu Menekşe BALKAN

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Cumhuri AKIN

Dr. Öğr. Üyesi Emine Hilal ŞENER

Dr. Öğr. Üyesi Kamil ATLI

Dr. Öğr. Üyesi Hidayet TUTUN

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi

YAZARLARA BİLGİ

I- Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi Genel Bilgiler

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi (MAKÜ) Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün yayın organıdır. Derginin kısaltılmış adı "MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg" dir. Yılda 2 kez yayınlanır. MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi sağlık bilimleri, (veteriner, tıp, diş hekimliği, hemşirelik ve spor bilimleri) alanlarında temel ve klinik hakemli bilim yazılarının yayımlandığı hakemdenetimli bir dergidir. Derginin dili Türkçe ve İngilizce'dir. Dergiye gönderilen yazıların başka herhangi bir dergide yayınlanmamış, yayına kabul edilmemiş ya da yayınlanmak üzere değerlendirme aşamasında olmaması gerekir. Bu kural bilimsel toplantılarda sunulan ve özeti yayınlanan bildiriler için geçerli değildir. Ancak, bu gibi durumlarda bildirinin sunulduğu toplantının adı, tarihi ve yeri bildirilmelidir. Makalelerin formatı "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication (<http://www.icmje.org/>)" kurallarına göre düzenlenmelidir.

Gönderilen yazılar yayın kuruluna ulaştıktan sonra öncelikle, yazım kurallarına uygunluğu yönünden değerlendirilir; sonucu yazara dört hafta içinde bildirilir. Yazının, gerek teknik özellikleri gerekse genel kapsamı açısından derginin genel yayın ilkelerine uygun bulunmaması durumunda yazı reddedilir. Ya da, gerekirse, yazar(lar)ın yazıyı yazım kurallarına uygun biçimde yeniden göndermeleri istenebilir. Yeniden gönderilen yazılar benzer bir teknik incelemenin ardından yazım kurallarına uygun ise danışman denetimi sürecine alınır. Yazı, editör ve yardımcı editörler ile yazının başlık sayfasını görmeyen en az iki danışmana gönderilerek incelenir. Yazı, yayın kurulunun belirlediği ve bilimsel içerik ve yazım kuralları açısından değerlendirilir. Editör ve yardımcı editörler gerek gördüğünde makaleyi üçüncü bir danışmana gönderebilir. Hakem belirleme yetkisi tamamen editör ve yardımcı editörler ve yayın kuruluna aittir. Danışmanlar belirlenirken derginin uluslararası yayın danışma kurulundan isimler seçilebileceği gibi yazının konusuna göre ihtiyaç duyulduğunda yurt içinden veya yurt dışından bağımsız danışmanlar da belirlenebilir. Daha sonra, danışman raporları dikkate alınarak ve gerekirse yazar(lar)la tekrar iletişim kurularak yayın kurulunca son redaksiyon yapılır. Yazıların kabulüne editör karar verir.

Editör yayın koşullarına uymayan yazıları; düzeltmek üzere yazarına geri gönderme, biçimce düzenleme veya reddetme yetkisine sahiptir. Yazılarını geri çekmek isteyen yazarlar bunu yazılı olarak editöre bildirmek durumundadır. Editör görülen lüzum halinde bazı makaleler hakkında yayın yürütme kurulunun görüşüne başvurur. Bu değerlendirme süreci dergiye gönderilen yazı türlerinden araştırma yazılarını, olgu sunumlarını ve özgün yazıları kapsar. Diğer yazı türlerindeki yazılar doğrudan yayın kurulunca değerlendirilir. Dergiye gönderilen yazılar yayınlansın ya da yayınlanmasın geri gönderilmez. Tüm yazarlar bilimsel katkı ve sorumluluklarını ve çıkar çatışması olmadığını bildiren toplu imza ile yayına katılmalıdır. Araştırmalara yapılan kısmi de olsa nakdi ya da ayni yardımların hangi kurum, kuruluş, ilaç-gereç firmalarınca yapıldığı dip not olarak bildirilmelidir. Dergide yayınlanan yazılar için herhangi bir ücret ya da karşılık ödenmez.

Yayın kurulu yazar(lar)ın dergiye gönderdikleri yazıları değerlendirme süreci tamamlanmadan başka bir dergiye göndermeyeceklerini taahhüt ettiklerini kabul eder. İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan deneysel araştırmaların bildirildiği yazıların gereç ve yöntem bölümünde, bu araştırmanın yapıldığı gönüllü ya da hastalara uygulanan işlemler anlatıldıktan sonra kendilerinin onaylarının alındığını (informed consent) gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yazar(lar), bu tür araştırmalarda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara (2002 yılında revize edilen 1975 Helsinki Deklarasyonu- <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>, Guide for the care and use of laboratory animals - www.nap.edu/catalog/5140.html), T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından getirilen, 29 Ocak 1993 tarih ve 21480 sayılı Resmi gazetede yayınlanan "İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve daha sonra yayınlanan diğer yönetmeliklerde belirtilen hükümlere uyulduğunu belirtmeli ve kurumdan aldıkları Etik Kurul Onayı'nın bir kopyasını göndermelidir. Metin içinde standart kısaltmalar kullanılır, bunlar ilk geçtikleri yerde açık olarak yazılır. İlaç adları kullanımında ilaçların jenerik adları Türkçe okunuşlarıyla yazılır. Ölçüm birimleri metrik sisteme uygun olarak verilir; örneğin, "mg" olarak yazılır, nokta kullanılmaz; ek alırsa (,) ile ayrılır. Laboratuvar ölçümleri Uluslararası Sistem (US; Systéme International: SI) birimleri ile bildirilir.

Bilimsel sorumluluk

Makalelerin tüm bilimsel sorumluluğu yazarlara aittir. Gönderilen makalede belirtilen yazarların çalışmaya belirli bir oranda katkısının olması gereklidir. Yazarların isim sıralaması ortak verilen bir karar olmalıdır. Sorumlu yazar, yazar sıralamasını "Yazar Sorumluluk ve Yayım Hakkı Devir Formu'nu" doldurarak tüm yazarlar adına kabul etmiş sayılır. Yazarların tümünün ismi makale başlığının altındaki bölümde yer almalıdır.

Yayın Ücretleri

Bu dergide yayın tamamen ücretsizdir. Yayın ücreti, başvuru ücreti, makale işleme ücreti ve bir figürün, rakamın veya tamamlayıcı verinin uzunluğuna göre ek ücret ödenmesi gerekmez. İçerik öğeleri (Editörler, Düzeltmeler, İlaveler, Geri Çekmeler, Mektuplar, Yorumlar vb.) tamamen ücretsizdir.

Etik sorumluluk

Makalelerin etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, çalışma protokolünün çalışmanın yapıldığı kurumdaki hayvan deneyleri etik kurulu tarafından onaylandığı belirtilmelidir. Yazarlar etik kurul onayını makale ile birlikte göndermelidir. Eğer makalede daha önce yayımlanmış alıntı yazı, tablo, resim vs. var ise yazarlar; yayım hakkı sahibi ve yazarlarından yazılı izin alarak bu durumu makalede belirtmek zorundadır. Makalenin değerlendirilmesi aşamasında yayın kurulunun gerek görmesi halinde, makale ile ilgili araştırma verilerinin ve/veya etik kurul onayı belgesinin sunulması yazarlardan talep edilebilir.

İntihal politikası

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi'ne (MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.) Gönderilen yazılar intihal açısından değerlendirilir. Her gönderilen makale, iThenticate ve Turnitin yazılımı ile intihal için kontrol edilir. Makalenin benzerlik oranı %20'nin üzerinde ise, revize edilmesi için ilgili yazara geri gönderilir. Eğer makalenin yayınlanmasından sonra intihal kanıtlanırsa, bu makale derhal web sitesinden kaldırılır ve ilgili yazarlara makalelerinin MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.'de yayınlanmasının uygun olmadığı bildirilecektir.

II- Dergiye Gönderilecek Yazı Türleri ve Özellikleri

a) Araştırma Makaleleri: Bu yazılar daha önce yayınlanmamış özgün araştırma verilerinin değerlendirildiği net anlam taşıyan bilimsel çalışmaları kapsar. Araştırma makaleleri “Öz, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Kaynaklar” bölümlerinden oluşmalıdır. Dergide yayınlanmak üzere gönderilen araştırma makaleleri kapak sayfası hariç en fazla 20 sayfa olmalıdır. Araştırma makalelerinde kullanılacak tablo, çizim ve resim sayısı toplam 10'u geçmemelidir. Yazarlar gerek duydukları takdirde “Tartışma” bölümünden sonra “Teşekkür” bölümü açarak gerekli açıklamaları yapabilirler.

b) Derleme Makaleleri: Derleme makaleleri dergi editör/yayın kurulu tarafından "çağrılı derlemeler" başlığı altında oluşturulan alında katkı sağlama potansiyeli olan yazıları içerir. Kaynakça bölümü en fazla 30 kaynakçadan oluşturulmalıdır. Derlemelerde kullanılacak tablo, çizim ve resim sayısı toplam 10'u geçmemelidir. Kapak sayfası hariç en fazla 20 sayfa olarak hazırlanmalıdır. Derlemelerde mutlaka “Öz, Giriş, Sonuç ve Kaynaklar” bölümleri bulunmalıdır.

c) Olgu Sunumları: Yazarların, herhangi planlanmış bir araştırmaya dayanmayan ancak karşılaştıkları yeni veya ender gözlemlenen olguların ele alındığı, bilimsel değere sahip bilgileri içeren eserlerdir. Bu eserlerde gereksiz uzatmaları önlemek amacıyla en fazla 15 kaynak kullanılmalı ve bu kaynakların güncel olmasına özen gösterilmelidir. Kapak sayfası hariç en fazla 5 sayfa olmalı; “Öz, Giriş, Olgu, Tartışma ve Kaynaklar” bölümlerinden oluşmalıdır.

d) Kısa Araştırma Raporu: Dar kapsamlı ele alınmış (sınırlı sayıda örneğin analiz edildiği çalışmalar vb.) ancak önemli ve yeni bilgiler sunan bilimsel araştırmaya dayalı makalelerdir. Kısa bildiriler araştırma makalesi formatında hazırlanmalı ve kapak sayfası hariç en fazla 10 sayfa olmalıdır. Bu eserlerde kullanılacak tablo ve şekil sayısı beşi geçmemelidir.

e) Özel Bölümler:

1. Editöre mektuplar: Dergide yayınlanan yazılara ilişkin değerlendirme ve eleştirileri içeren yazılardır. Mümkün olduğunca eleştirilen yazının yazar(lar)ınca verilen yanıtlar ile birlikte yayınlanır. Editöre mektuplar 3 sayfayı geçemez.

2. Toplantı haberleri/izlenimleri: Derginin yayın alanıyla ilgili konularda yapılmış ya da yapılacak olan bilimsel toplantıları tanıtıcı yazılardır. 1 sayfayı geçemez.

3. Dergi haberleri: Derginin yayın alanıyla ilgili konularda yayınlanmakta olan bilimsel dergileri tanıtıcı yazılardır; 1 sayfayı geçemez.

4. Web siteleri tanıtımı: Derginin yayın alanıyla ilgili konulardaki web sitelerini tanıtıcı yazılardır; 1 sayfayı geçemez.

5. Kitap/tez tanıtımı: Derginin yayın alanıyla ilgili konularda yayınlanmış bulunan kitapları/tezleri tanıtan yazılardır; 3 sayfayı geçemez.

III- Makalelerin Düzenlenmesi

Dergiye gönderilecek yazılar türlerine göre, başlık sayfası, İngilizce ve Türkçe özetler, ana metin, kaynaklar, tablo/şekil/resim bölümlerini içerir. Dergiye yayınlanması için gönderilen makalelerde aşağıdaki biçimsel esaslara uyulmalıdır: Yazı Microsoft Word programında Times New Roman yazı stilinde 12 punto büyüklüğünde, siyah renkte, 1,5 satır aralığında hazırlanmalıdır. Kenarlardan 2,5 cm boşluk bırakılmalıdır. Her

sayfaya satır numarası eklenmelidir.

Anatomik terimler Latince yazıldığı gibi kullanılmalıdır. Günlük tıp diline yerleşmiş terimler ise okudukları gibi Türkçe yazım kurallarına uygun olarak yazılmalıdır. İngilizce veya başka bir yabancı dildeki şekli ile yazılan terimler tırnak içinde belirtilmelidir. Yazının başlık sayfasında, yazının Türkçe ve İngilizce başlığı ve sayfa üstünde kullanılmak üzere boşluklar da dahil 40 karakteri aşmayacak şekilde Türkçe ve İngilizce kısa başlık önerisi bulunmalı. Çalışmaların yapıldığı klinik, anabilim dalı/bilim dalı, enstitü ve kuruluşun adı belirtilmelidir.

a) Başlık Sayfası: Gönderilen makalenin kategorisini, başlığını (Türkçe-İngilizce ve sadece ilk sözcüğün baş harfi büyük), yazarların adlarını (sadece baş harfleri büyük yazılır), çalıştıkları kurumları (rakamla dipnot olarak belirtilmeli), yazışmaların yapılacağı sorumlu yazarın adı, açık adresi, telefon ve faks numaraları ile e-posta adresini içermelidir. Sorumlu yazar yıldız (*) ile belirtilir. Makale daha önce bilimsel bir toplantıda sunulmuş ise toplantının adı, tarihi ve yeri belirtilerek yazılmalıdır.

b) Ana Metin Bölümü: Yazının ana metni Öz ve Anahtar Kelimeler, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular ve Tartışma başlıkları içinde düzenlenir. Özler ve anahtar sözcükler: Türkçe ve İngilizce olmak üzere iki dilde yazılır ve yazının başlığını da içerir.

Öz 200 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın ana noktaları olan amacını, hayvan ve örnek popülasyonunu, metodunu ve önemli sonuçlarını, çalışmadan elde edilen çıkarımı klinik olarak uygulanabilirliğini içermelidir. Yayını okumadan okuyucular için anlaşılır olmalıdır ve özet içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır. Türkçe ve İngilizce özetler ayrı sayfalarda yazılmalı ve özetlerin sonunda her iki dilden en az 3, en çok 5 anahtar sözcük yer almalıdır. Anahtar kelimeler Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH)'e uygun olmalıdır. Anahtar kelimeler için www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html adresine başvurulmalıdır.

Giriş bölümünde yazının dayandığı temel bilgilere ve gerekçelere kısaca değinildikten sonra, paragrafında amaç açık bir anlatımla yer alır. Gereç ve yöntem bölümü gerekirse araştırma/hasta/denek grubu, araçlar, uygulama ve istatistik değerlendirme gibi alt başlıklara göre düzenlenebilir. Bu bölüm çalışmaya katılmayan birisinin de rahatlıkla anlayabileceği açıklıkta yazılmalıdır. Bulgular bölümü çalışmanın sonuçlarını özetler ve temel bulgular gerekirse tablo ve şekillerle desteklenir. Tartışma bölümünde çalışmanın bulguları ilgili yurt içi ve yurt dışı çalışmaların sonuçları bağlamında tartışılır; genel bir gözden geçirmeyi değil, özgün bulguların tartışılmasını içerir. Yayın sisteme yüklenirken ana metin bölümü ana dosya olarak yüklenmelidir.

c) Teşekkür: Yazarlar çalışmalarında vermek istedikleri ek bilgiler ile katkı sağlayan destekçi kurumlara ve/veya şahıslara teşekkür yazılarını bu bölümde belirtebilirler.

d) Kaynaklar: Kaynaklar listesi alfabetik sıraya göre yazılmalıdır. Sadece yayınlanmış veya yayına kabul edilmiş kaynaklar yer almalıdır. Kabul edilmiş ancak henüz yayınlanmamış kaynaklar için "baskıda" ifadesi kullanılmalıdır. Yazarlar kaynaklar listesinde bulunan bütün kaynakların metin içinde kullanılmış olduğunu kontrol etmelidirler.

Yayındaki bütün kaynaklar kullanılmalıdır. Makale içinde referans kullanma şekline örnekler.

Metin içinde doğrudan atıf yapılırken yazar veya yazarların soyadından sonra parantez içinde kaynağın yayın yılı belirtilmelidir.

Örnekler: Bell (2005) tarafından; Nielsen ve Engberg (2006) tarafından; Doyle ve ark. (2007) tarafından
Cümlelerin sonunda atıf yapıldığında ise yazar ismi ve yayın yılı parantez içinde belirtilmelidir.

Örnekler: ...bildirilmiştir (Bell, 2005); ...bildirilmiştir (Nielsen ve Engberg, 2006);bildirilmiştir (Doyle ve ark., 2007).

Birden çok kaynağa atıf yapılması durumunda kronolojik sıralama yapılmalıdır.

Örnekler:bildirilmiştir (Bell, 2005; Nielsen ve Engberg, 2006; Doyle ve ark., 2007).

Aynı yazarın aynı yıl yayınları söz konusu ise her biri "a" harfinden başlayarak küçük harflerle işaretlenmelidir.

Örnek: (Bell, 2005a; Bell, 2005b; Bell, 2005c ...). Atıf yapılırken aşırı kaynak kullanımından kaçınılmalıdır.

Kaynaklar listesinin düzenlenmesi:

Mendeley programı kullanan yazarlar aşağıda linki verilen dergi format stilini kullanarak çalışmalarını düzenleyebilir:

<https://cs1.mendeley.com/styles/529990351/makusagbilensderg>

Kaynaklar listesinde yazar isimleri ve yayın yılı koyu harflerle yazılmalıdır. Kaynak listesi şu şekilde hazırlanmalıdır:

i) Kaynak makale ise

Yazarların soyadları ve adlarının ilk harfi yazılmalıdır. Devamında sırasıyla makalenin yayın yılı, makalenin adı,

yayınlandığı derginin açık adı, cilt, sayı ve sayfa numaraları belirtilmelidir.

Örnekler:

Cohen, N.D., Vontur, C.A., Rakestraw, P.C., 2000. Risk factors for enterolithiasis among horses in Texas. Journal of the American Veterinary Medical Association 216, 1787-1794.

Rajmohan, S., Dodd, C.E., Waites, W.M., 2002. Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage. Journal of Applied Microbiology 93, 205-213.

Ono, K., Yamamoto, K., 1999. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. International Journal of Food Microbiology 47, 211-219.

Yayınlanmak üzere kabul edilen ve DOI numarası bulunan, ancak henüz basılmamış makaleler için; makale künyesinin sonunda DOI numarası belirtilmelidir.

McGregor, B.A., Butler, K.L., 2014. The value of visual fleece assessment in addition to objective measurements in identifying Angora goats of greater clean mohair production. Small Ruminant Research, in press (DOI: 10.1016/j.smallrumres.2014.04.001).

ii) Kaynak kitap ise

Yazarların (veya editörün) soyadları ve adlarının ilk harfi yazılmalıdır. Devamında sırasıyla kitabın yayın yılı, adı, yayınevi veya yayınlayan kuruluş ve yayınlandığı yer belirtilmelidir. Kaynak, kitaptan bir bölüm ise bölüm yazarlarının isminden sonra sırasıyla kitabın yayın yılı, bölümün adı, editörün soy ismi ve adının ilk harfi, bölümün alındığı kitabın adı, yayınevi veya kuruluş, yayınlandığı yer, bölümün sayfa numaraları yazılmalıdır.

Örnekler:

Combs, G.F., 1992. The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Academic Press, San Diego.

Concannon, P.W., 1986. Physiology and Endocrinology of Canine Pregnancy. In: Marrow, D.A. (Ed.), Current Therapy in Theriogenology. Philadelphia, W.B. Saunders Company, pp. 491-497.

Perkins, J.B., Pero, J., 2002. Vitamin biosynthesis. In: Sonenshein, A., Hoch, J., Losick, R. (Eds.), *Bacillus subtilis* and Its Closest Relatives: from Genes to Cells. ASM Press, Washington D.C., pp. 271-286.

Kramer, J.M., Gilbert, R.J., 1989. *Bacillus cereus*. In: Doyle, M.P. (Ed.), Foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker, New York, pp. 22-70.

iii) Kaynak bir tez ise

Tezi yazan kişinin soyadı ve adının ilk harfi koyu olarak yazılmalı, kabul edildiği yıl, tezin başlığı, tezin cinsi (yüksek lisans veya doktora), üniversitesi ve enstitüsü belirtilmelidir.

Örnek:

Bacinoğlu, S., 2002. Boğa spermasında farklı eritme süreleri ve eritme sonrasında oluşturulan soğuk şoklarının spermatolojik özelliklere etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

iv) Kaynak internette bulunan bir web sitesi ise

Yazarların soyadları ve adının ilk harfi (Yazar adı yoksa web sitesinin veya kaynağın adı) yazılır. Daha sonra sırasıyla yılı, makalenin adı, varsa yayıncı, internet adresi ve erişim tarihi belirtilir.

Örnekler:

FDA, 2001. Effect of the use of antimicrobials in food-producing animals on pathogen load. Systematic review of the published literature. <http://www.fda.gov/cvm/antimicrobial/PathRpt.pdf> (Erişim 14.12.2001)

Cleveland, C.W., Peterson, D.S., Latimer, K.S., 2005. An Overview of Canine Babesiosis. Clinical Pathology. College of Veterinary Medicine, The University of Georgia: <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Cleveland> (Erişim 17.12.2005).

Thierry, F., 2006. Contagious equine metritis: a review. Equine Reproductive Infections: <http://www.equinereproinfections.com> (Erişim 07.07.2006).

FSAI, 2008. Report of the Implementation Group on Folic Acid Food Fortification to the Department of Health and Children. Food Safety Authority of Ireland: <http://www.fsai.ie/assets/0/86/204/cc3c2261-7dc8-4225-bf79-9a47fbc2287b.pdf> (Erişim 20.06.2008)

v) Kaynak bilimsel toplantıda sunulmuş bir bildiri ise

Yazarların soyadı ve adının baş harfinden sonra sırasıyla toplantının yılı, bildirinin başlığı, toplantının adı, toplantı yeri, bildiri kitabındaki sayfa no yazılmalıdır.

Örnekler:

Cardinali, R., Rebollar, P.G., Mugnai, C., Dal Bosco, A., Cuadrado, M., Castellini, C., 2008. Pasture availability and genotype effects in rabbits: 2. development of gastro-intestinal tract and immune function of the vermiphorm appendix. In: Proc. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, 1159-1164.

Mauget, R., Legendre, X., Comizzoli, P., 1998. Assisted reproductive technology in sika deer: a program to preserve endangered deer subspecies. In: Proc. 4th Int. Deer Biology Congress, Kaspovar, 185-186.

e) Tablolar: Kullanım sırasına göre numaralandırılmalı, kısa başlıklarla ifade edilmeli ve metin içinde tablo numarası verilerek (örneğin Tablo 1) atıfta bulunulmalıdır. Tablo başlıkları tablonun üst bölümüne yazılmalıdır. Tabloda kullanılan kısaltmalar ve gerekli açıklamalar tablo altında verilmelidir.

f) Şekil ve Resimler: Metinde kullanılan fotoğraflar, grafikler ve çizimler metin içinde şekil adı ile kullanılmalıdır. Şekiller kullanım sırasına göre numaralandırılmalı ve kısa başlıklarla ifade edilmeli, metin içinde

şekil numarası verilerek (örneğin Şekil 1) atıfta bulunulmalıdır. Şekil başlıkları şekillerin altında yer almalıdır. Şekillerde istenilen noktaya dikkat çekmek amacıyla; üzerlerine işaret konulmalı ve başlıklardan sonra yer alacak olan şekil altı notta kullanılan işaretler belirtilerek gerekli açıklamalar yapılmalıdır.

IV- Makale Süreci (Kör hakemlik)

Makale başvurusu yalnızca online olarak <http://dergipark.gov.tr/maeusabed> adresi üzerinden kabul edilmektedir. Sorumlu yazar, makale ile birlikte göndereceği tüm dosyaları yukarıdaki internet adresinde bulunan yeni makale gönder ikonunu tıklayarak sisteme ekleyebilir. Yazarlar dergiye gönderi yapmadan önce kayıt olmalıdır. Kaydı olduktan sonra, ana sayfadaki Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi ikonuna tıklayarak; yazım kurallarına göre düzenlenmiş bilimsel çalışmayı dergi panelindeki Makale Gönder kısmından 4 basamaklı (başlarken, yükleme, kaynaklar, önizleme&gönder) gönderi işlemini yapabilir. Gönderilen makalede ön değerlendirme aşaması sırasında yazar künyeleri, çalışmanın yapıldığı kurum, etik kurul ya da özel izin adres bilgileri gibi tanıtıcı bilgiler içermemelidir. Ön değerlendirmeden (bilimsel nitelik, dil, yazım kuralları kontrolü, İntihal kontrolü iThenticate ve Turnitin programı.) geçen bilimsel çalışmaların hakem ataması yapılır. Sorumlu yazar makalenin hangi aşamada olduğunu sistem panelindeki Süreçteki Makaleler kısmından takip edebilir. Atanan hakemlere, kör hakemlik kuralları çerçevesinde çalışmanın tam metni, şekil, tablo, grafik ve resimleri sistem üzerinden yüklenerek e-posta aracılığıyla makale değerlendirme talebi gönderilir. Hakemler e-posta aracılığıyla gönderilen linke tıklayarak talebi kabul ya da reddederler. Kabul eden hakemler, kararlarını sistem üzerinden en fazla 1 ay içinde sebeplerle birlikte yüklemelidirler. Hakemin önerdiği düzeltme var ise tekrar yazara gönderilir. İstenilen düzeltmeler 1 ay içinde tamamlanıp gönderilmediği takdirde makale otomatik olarak iptal edilecektir. Editör, makalelerin yayın değerliliği ve hakemlerin görüşlerine dayanarak yayına kabul veya red kararını verir. İstenilen düzeltmeler yapıldıktan sonra makale yazar tarafından sisteme tekrar yüklenir. Derginin gizlilik bildiriminde belirtildiği gibi, yazarların kimlik bilgileri ve e-posta adresleri hiçbir şekilde başka amaçlar için kullanılmayacaktır.

Bu dergi; bilimsel araştırmaları halka ücretsiz sunmanın bilginin küresel paylaşımını artıracakı ilkesini benimseyerek, içeriğine anında açık erişim sağlamaktadır.

Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

I- Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute General Information

Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute (MAKU J. Health Sci. Inst.) is the publication of Mehmet Akif Ersoy University Health Sciences Institute. It is published two times annually. The journal is a peer-reviewed scientific journal in which basic and clinical scientific articles in the field of medical sciences (veterinary, medicine, dentistry, nursing and sports sciences) are published. The language of the journal is both Turkish and English. Papers submitted to the journal should not have been previously published, accepted for publication or be in the process of evaluation for publication in any other journal. This rule does not apply to articles presented as bulletins in scientific meetings and whose summaries are published. In such cases, however, the name, date and place of the meeting in which the paper was presented should be notified. The format of the article should be in accordance with the rules of "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication (<http://www.icmje.org/>)".

On receipt of the paper by the Editorial Board, the paper is evaluated for compliance with the format rules and the authors are informed about the result in four weeks. In the event that the paper is not found to comply with the general publication principles of the journal from the standpoint of either technical characteristics or general scope, the paper is rejected. Alternatively, the author(s) may be asked to re-submit the paper in accordance with the writing requirements. Papers resubmitted are passed through a similar technical examination and, if found to comply with the rules, are passed on for peer review. The paper is sent, without the title, to two reviewers selected by the board, who then assess the paper for scientific content and format compliance. When necessary the Editorial Advisory Board can send the paper to third reviewers. The selection of reviewers is ultimately at the discretion of the editor, associate Editors and/or the editorial board. The appropriate reviewers can be selected from journal's international database of reviewers listing or, if needed; independent reviewers can be determined from inland or abroad. Thereafter the Editorial Advisory Board carries out the final editing, taking the reports of the reviewers into consideration, and, when necessary, communicating with the author(s).

The Editor gives the final decision about the acceptance of the manuscript. The Editorial Board is authorized to publish the paper, return it for correction, or reject it. The assessment process involves research articles, case reports and original articles submitted to the journal. Other types of articles are evaluated directly by the Board. Papers submitted to the journal will not be returned whether they are published or not. The Editor and the Editorial Board have the right to reject, to require additional revision or to revise the format of manuscripts which do not follow the rules. The authors should inform the editorial board if they decide to withdraw the manuscript. The editor may consult editorial executive board about a manuscript if (s) he deems necessary. All the authors should submit a collectively signed statement that there is no conflict of interest regarding scientific contribution or responsibility. The association, establishment, and medication-material supply firms which have given financial, even partial, or material support to the research should be mentioned in a footnote. No fee or compensation will be paid for articles published in the journal.

The Editorial Board assumes that the author(s) are obliged not to submit the paper to another journal before completion of the assessment process. In the "method" section of articles concerned with experimental research on humans or animals, a sentence showing that the informed consent of patients and volunteers has been obtained following a detailed explanation of the interventions carried out on them. In such studies, authors should clearly state the compliance with internationally accepted guidelines (1975 Helsinki declaration revised in 2002 <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>, Guide for the care and use of laboratory animals-www.nap.edu/catalog/5140.html) issued by the Republic of Turkey Ministry of Health and published in the Official Journal dated 29 January 1993 number 21480 "Regulations Concerning Drug Research", and other more recently published rules laid out in governing statutes. They should forward a copy of the Ethic Committee Approval received from the relevant institution. Standard abbreviations used in the text are written in full when first mentioned. In the use of drugs, the generic names should be written in their Turkish pronunciation spelling form. Measurement units are given according to the metric system; e.g. written as "mg", no punctuation is used, in the case of extensions (,) is used as a separator. Laboratory measurements are reported in International System Units (US; Systeme Internationale; SI).

Scientific responsibility

All scientific responsibility of the articles belongs to the authors. The authors of the submitted article must have a specific contribution to the work. Authors' name ordering should be a joint decision. Corresponding author is considered to accept the author sorting by filling in "Author Responsibility and Publication Transfer

Form" on behalf of all authors. All of the authors should be listed under the title of article.

Publication Fees

Publication in this journal is totally FREE. There are no publication charges, no submission charges, no article processing charges and no surcharges based on the length of an article, figures or supplementary data. Editorial items (Editorials, Corrections, Additions, Retractions, Letters, Comments, etc.) are published free of charge.

Ethical responsibility

The authors are responsible for their compliance with the ethical rules. In experimental studies on animals, it should be noted that the study protocol has been approved by the animal experiment ethics committee at the institution where the study was conducted. Authors should submit the ethics committee's approval with the article. If there are previously published text, tables, pictures, etc. in the article, the authors have to get written permission from the copyright holder and the authors should specify and indicate the used material in the manuscript. In the course of the manuscript evaluation, the authors may be requested to submit the research data and / or the ethics committee approval document if deemed necessary.

Plagiarism policy

Manuscripts submitted to Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute is evaluated in terms of plagiarism. Every submitted article is checked for plagiarism through iThenticate and Turnitin software. When Similarity Index of the article is above %20, it is sent back to the corresponding author to revise it. If plagiarism is proved after publication of the article, that article will be immediately removed from the website and the concerned authors will be considered ineligible for publication of their articles in Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute.

II- Types and Characteristics of Papers to be Submitted to the Journal

a) Research Articles: These articles are prepared in full accordance with the writing style definitions given below, in which previously unpublished original research data are evaluated. The main text section of the research articles should include (Title, Introduction Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusion) sections and (excluding title page, bibliography, tables/figures/pictures) should not exceed 20 pages. If some parts of the research data given in these articles have previously been discussed in another paper, this must be notified without fail when sending the paper and, in addition, reference should be made to the relevant paper within the bibliography.

b) Review Articles: Review Articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited. Invited reviews will normally be solicited by the Review's Editor, but suggestions for appropriate review topics may be sent to editor.

c) Case Reports: These are articles which present and discuss the characteristics of one or more cases which have special features and scientific importance from the clinical evaluation, observation or other standpoint. Case presentations include the title page, summary, main text (includes introduction, case and discussion), bibliography, table/figure/picture sections; subtitles in the main text are organised according to the text content. Abstracts of the case presentations should have 150 words. The main text (excluding title page, bibliography, table/figure/picture) should not exceed 10 pages.

d) Brief Reports: These are articles in which original ideas dealing with important theoretical or practical problems related to a specific subject are presented and discussed. Original articles include a title page, summary, main text, bibliography, table/figure/picture sections; subtitles in the main text are organised according to the text content. The main text of original articles (excluding title page, bibliography, table/figure/picture) should not exceed 10 pages.

e) Special Sections:

1. Letters to the Editor: These articles include evaluation and criticisms of articles published in the journal. These are published together with the responses of the author(s) of the paper concerned where possible. Letters to the Editor may not exceed 5 pages.

2. Meeting news/notes: These articles introduce scientific meetings held or to be held on subjects within the scope of the journal. The paper may not exceed 1 page.

3. Journal news: These articles introduce scientific journals being published within the scope of the journal. The paper may not exceed 1 page.

4. Introduction of websites: These articles introduce websites relevant to the scope of the journal. These articles may not exceed 1 page.

5. Book/Thesis Section: These articles introduce books/theses published on subjects related to the scope of the journal and may not exceed 3 pages.

III- Preparation of Manuscripts

Papers to be submitted to the journal include the sections of title page, abstract, main text, references and tables/figures/pictures. Articles submitted for publication in the journal should follow the following formal principles: The text should be prepared in Microsoft Word program in Times New Roman font style with a font size of 12 font, black and 1.5 line. All side of the paper, page margins should be as 2.5 cm. Line numbers should be added to the beginning of the page.

Anatomical terms should be used as written in Latin. Running title (not exceed 40 characters) of the manuscript should add to title page. The name of the clinic, department / science, institute and institution should be stated.

a) Title Page: should contain the category, the title (only first letter capital), the names of the authors (only the first letters capital), the institution (s) where they work (indicated with numbered footnotes), corresponding author (address, phone, fax numbers and e-mail address). Corresponding author is indicated by an asterisk (*). If the article was previously presented at a scientific meeting, the name, date and place of the meeting must be stated.

b) Main Text: The main text of the paper is organised under the subtitles of Abstract and Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion.

Abstract and Keywords: This is written in two languages, Turkish and English, and also includes the title of the paper. The abstract is consists of 200 words. The abstract should bring out the main points of the manuscript and should include the following information: objective, the animals or sample population involved, design, the materials and methods used, the main results, a brief conclusion and clinical relevance, where applicable. They should be comprehensible to readers before they have read the paper, and abbreviations and reference citations should be avoided. At the end of the abstract, at least 3, at most 5 keywords in both languages are included.

In the introduction, following a brief statement of basic information and justifications which constitute the basis of the paper, the objective is clearly given in the last paragraph. If necessary, the “method” section may be organised according to sub-titles such as research/patient/ test group, instruments, application and statistical analysis. This section should be written with clarity so that a person not involved in the study may easily understand. Results summarize the findings of the study and, when necessary, basic findings are supported with tables and figures. In the discussion section, the findings of the study are discussed in the light of relevant national and international studies; this section includes discussion of original findings, not a general review.

c) Acknowledgements: When considered necessary, author(s) may add brief acknowledgements in a few sentences to those whose contributions to the paper are not at author level but deserve to be mentioned. Here, the contributions of those acknowledged (e.g. financial or equipment aid, technical support etc) are clearly stated (e.g. “scientific counseling”, “editing of the draft”, “data collection”, “participation in clinical research” etc).

d) Bibliographic References:

All citations in the text should refer to: the year of publication of the reference should be indicated in parentheses after the surname of the author or authors.

Examples: Bell (2005), Nielsen and Engberg (2006), Doyle et al. (2007) were indicated that.....

The name of the author and the year of publication should be stated in parentheses at the end of the sentence.

Examples: ...were detected as 23% of the samples (Bell, 2005); ...were detected as 23% of the samples (Nielsen and Engberg, 2006); ...were detected as 23% of the samples (Doyle et al., 2007).

In case of more than one reference, references should be arranged chronologically.

Examples: ...were reported that... (Bell, 2005; Nielsen and Engberg, 2006; Doyle et al., 2007).

More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples: (Bell, 2005a; Bell, 2005b; Bell, 2005c ...)

The authors can use below formatted style link in mendeley:

<http://csl.mendeley.com/styles/529990351/sagbilensderg>

References should be written in alphabetical order. Reference style, the authors' names and year of publication should be written in bold. Source list should be prepared as follows:

i) Examples of journal articles:

Cohen, N.D., Vontur, C.A., Rakestraw, P.C., 2000. Risk factors for enterolithiasis among horses in Texas. Journal of the American Veterinary Medical Association 216, 1787-1794.

Rajmohan, S., Dodd, C.E., Waites, W.M., 2002. Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage. *Journal of Applied Microbiology* 93, 205-213.

Ono, K., Yamamoto, K., 1999. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *International Journal of Food Microbiology* 47, 211-219.

For articles that are accepted for publication and have a DOI number but not yet published; DOI number must be specified at the end of the article.

McGregor, B.A., Butler, K.L., 2014. The value of visual fleece assessment in addition to objective measurements in identifying Angora goats of greater clean mohair production. *Small Ruminant Research*, in press (DOI: 10.1016/j.smallrumres.2014.04.001).

ii) Books:

Combs, G.F., 1992. *The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health.* Academic Press, San Diego.

Concannon, P.W., 1986. *Physiology and Endocrinology of Canine Pregnancy.* In: Marrow, D.A. (Ed.), *Current Therapy in Theriogenology.* Philadelphia, W.B. Saunders Company, pp. 491-497.

Perkins J.B., Pero, J., 2002. Vitamin biosynthesis. In: Sonenshein, A., Hoch, J., Losick, R. (Eds.), *Bacillus subtilis and Its Closest Relatives: from Genes to Cells.* ASM Press, Washington D.C., pp. 271-286.

Kramer, J.M., Gilbert, R.J., 1989. *Bacillus cereus.* In: Doyle, M.P. (Ed.), *Foodborne Bacterial Pathogens.* Marcel Dekker, New York, pp. 22-70.

iii) Thesis:

Bacinoğlu, S., 2002. Boğa spermasında farklı eritme süreleri ve eritme sonrasında oluşturulan soğuk şoklarının spermatolojik özelliklere etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

iv) Web site or author is an institution:

FDA, 2001. Effect of the use of antimicrobials in food-producing animals on pathogen load. Systematic review of the published literature. <http://www.fda.gov/cvm/antimicrobial/PathRpt.pdf> (Accessed: 14.12.2001)

Cleveland, C.W., Peterson, D.S., Latimer, K.S., 2005. An Overview of Canine Babesiosis. *Clinical Pathology.* College of Veterinary Medicine, The University of Georgia: <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Cleveland> (Accessed: 17.12.2005).

Thierry, F., 2006. Contagious equine metritis: a review. *Equine Reproductive Infections:* <http://www.equinereproinfections.com> (Accessed: 07.07.2006).

FSAI, 2008. Report of the Implementation Group on Folic Acid Food Fortification to the Department of Health and Children. Food Safety Authority of Ireland: <http://www.fsai.ie/assets/0/86/204/cc3c2261-7dc8-4225-bf79-9a47fbc2287b.pdf> (Accessed: 20.06.2008).

v) Paper presented at a scientific meeting

Cardinali, R., Rebollar, P.G., Mugnai, C., Dal Bosco, A., Cuadrado, M., Castellini, C., 2008. Pasture availability and genotype effects in rabbits: 2. development of gastro-intestinal tract and immune function of the vermiform appendix. In: Proc. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, 1159-1164.

Mauget, R., Legendre, X., Comizzoli, P., 1998. Assisted reproductive technology in sika deer: a program to preserve endangered deer subspecies. In: Proc. 4th Int. Deer Biology Congress, Kaspovar, 185-186.

e) Tables: Each table is printed on a separate page and numbered according to the sequence of referral within the text (Table 1). Each table has a title and, when necessary, explanations are given under the table (e.g. abbreviations given in the table). Each table should be understandable without need for referral to the text. Each table should be referred to in the text..

f) Figures and Pictures: Figures should be numbered according to the order of use and should be expressed with short titles. Figures should be numbered in the text (Figure 1). Letters, numbers and symbols within the figure should be clear and readable when downsized for printing. Each figure should be referred to in the text..

IV- Submission of Articles (Blind Peer-Review)

The article submission is only accepted online via '<http://dergipark.gov.tr/maeusabed>' The Corresponding authors, all the files can be added to the system by clicking the submit new article icon at the above address. Authors must register on Dergipark system before submitting a manuscript. After signing up, clicking Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences icons on the main page, the manuscript written according to the guide for authors is submitted in 4 steps (start, submission, reference, preview & submit). The submitted manuscript must not contain any identifying information, such as author information, institution, ethics committee or special permit address, during the preliminary evaluation phase. The manuscript that pass the preliminary evaluation (paper scientific qualification, language, conformity to Guide for author and checking plagiarism via iThenticate and Turnitin program,) are assigned to the Reviewers. The corresponding author can follow the article evaluation process from the section on the Articles in the Process. According to the blind peer-review rules, the main text, tables, graphics and pictures of the manuscript are uploaded via the system and sent to the appointed reviewers for an article evaluation request via e-mail. The reviewers accept or reject the request by clicking on the link sent via e-mail. The reviewers who accept it have to upload their decisions together with the reasons within a maximum of 1 month via the system. If the correction requested by the Reviewer is sent back to the author. If the requested corrections are not completed within 1 month, the article will be automatically canceled. After the

desired corrections are made, the article is uploaded back to the system by the author. The editor makes decisions to accept or reject papers based on their opinion of the papers' publication worthiness and reviewers' comments. As stated in the privacy statement, authors' identity information and e-mail addresses will not be used for any other purpose.

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

(*Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*)

MÜRACAAT VE YAYIN HAKLARI DEVİR FORMU

(*Application and Copyright Transfer Statement*)

Derginin kısaltılmış adı: "MAKÜ Sağ. Bil. Inst. Derg." dir.

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisinde yayınlanmak üzere göndermiş olduğumuz "....." adlı

Orijinal Araştırma / Research Articles (),

Derleme / Review Articles (),

Gözlem / Case Reports (),

Editöre Mektup / Editorial Letter (),

Diğer / Other (), (.....) ile ilgili olarak;

The authors confirm the following statements:

1-that there has been no duplicate publication or submission elsewhere of this work

2-that all authors have read and approved the manuscript, are aware of the submission for publication and agree to be listed as co-authors.

1-Bu makalenin/derlemenin bir kısmı ya da tamamı başka bir dergide yayınlanmamıştır.

2-Bu makale/derleme yayınlanmak üzere başka bir dergiye gönderilmemiştir.

3-Makale/derleme yayınlandıktan sonra tüm hakları Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisine devredilmiştir.

4-Tüm yazarlar makaleyi okumuş ve onaylamıştır. Yayınlanmak üzere dergiye gönderildiğinden haberdardır.

5-Tümü veya bir bölümü yayınlandı ise derginizde yayınlanabilmesi için gerekli iznin alındığını garanti ederiz.

Aşağıdaki maddelerde belirtilen haklarımız saklı kalmak kaydı ile makalenin telif hakkını Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ve imza ederiz.

a- Telif hakkı dışında kalan patent vb. bütün haklar,

b- Yazarların ders, kitap gibi çalışmalarında makaleyi ücret ödemeksizin kullanabilme hakkı,

c- Satmamak üzere kendi amaçları için makaleyi çoğaltma.

Yazarlar / Author Name (tüm yazarlar tarafından imzalanacaktır)	İmza / Signature	Tarih / Date

Yazışma adresi / Corresponding author address:		
Telefon:	Fax:	E-mail:@.....

(Form doldurulup imzalandıktan sonra; "Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi Editörlüğü, 15030-BURDUR" adresine yollayınız).

This Form should be signed by all authors OR by the corresponding (or senior) author who can vouch for all co-authors. A scanned copy of the completed Form may be submitted online. Alternatively, the completed Form may be faxed to the relevant Editor:



İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Araştırma Makaleleri / Research Articles	Sayfa/Page
Kolonoskopi Uygulanan Hastaların Memnuniyet Durumlarının Belirlenmesi <i>Determination of the Satisfaction Status of Patients Undergoing Colonoscopy</i> Zeynep KIZILCIK ÖZKAN, Seher ÜNVER, Sacide YILDIZELİ TOPÇU, Ümmü YILDIZ FINDIK¹, Doğan ALBAYRAK, Şükriye FİDAN	57-64
Kuru Göz Sendromlu Hastaların Tedavisinde %0,05 Siklosporin A'nın Etkinliği <i>Efficacy of Cyclosporine A 0.05% in the Treatment of Patients with Dry Eye Syndrome</i> Özge ŞEVİK, Özlem EVREN KEMER	65-72
Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Siklooksijenaz-2 (COX-2) Ekspresyonu Üzerine Heparin'in Etkisi <i>The Effect of Heparin on Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in the Rat Uterine Tissue During Early Pregnancy</i> Fatma ERYAVUZ, Jale ÖNER	73-89
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> Seropozitif Olan Köpeklerde Bazı Anemi Parametreleri ile Hepsidin Düzeyinin İlişkisi <i>The Relationship Between Some Anemia Parameters and Hepsidin Level in Anaplasma phagocytophilum Seropositive Dogs</i> Menekşe DENİZ, Şima ŞAHİNDURAN	90-97
Felin İnfeksiyöz Peritonitli Kedilerde Adenozin Deaminaz ve C-reaktif Protein Düzeylerinin Araştırılması <i>Investigations of Adenosine Deaminase and C-reactive Protein in Cats with Feline Infectious Peritonitis</i> Mehmet Akif KAHRAMAN, Halil İbrahim GÖKCE	98-107
Koç Spermasının Dondurulmasında Oksidatif Stres Üzerine Trolox ve Taurinin Etkisi <i>Effects of Trolox and Taurin on Oxidative Stress During Ram Semen Cryopreservation</i> Deniz YENİ, Şükrü GÜNGÖR, Fatih ADVATEK, Muhammed Enes İNANÇ, Umut TAŞDEMİR	108-113
Yeni Sütten Kesilmiş Besi Buzağlarında Transport Sonrası Klinik Gözlemler <i>Clinical Observations of Recently Weaned Beef Calves After Transport</i> Yiğit TAN, Ramazan YILDIZ	114-118
Neonatal Buzağı İshallerinde Farklı Etiyolojik Faktörlerin Hemogram Parametreleri Üzerine Etkisi <i>The Effects of Different Factors on Hemogram Parameters on Neonatal Calves with Diarrhea</i> Türker ATCALI, Ramazan YILDIZ	119-127
Antalya İli ve Çevresinde Sığırcılık İşletmelerinde Bovine Viral Diyare Virus (BVDV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması <i>Serological Research of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Infection in Cattle Farms in Antalya Province</i> Ayşen DEMİRSOY, Nuri MAMAK	128-137

Kolonoskopi Uygulanan Hastaların Memnuniyet Durumlarının Belirlenmesi

Determination of the Satisfaction Status of Patients Undergoing Colonoscopy

Zeynep KIZILCIK ÖZKAN^{1*}, Seher ÜNVER¹, Sacide YILDIZELİ TOPÇU¹, Ümmü
YILDIZ FINDIK¹, Doğan ALBAYRAK², Şükriye FİDAN³

¹Trakya Üniversitesi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Cerrahi Hastalıkları Hemşireliği AD., Edirne, Türkiye

²Trakya Üniversitesi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD., Edirne, Türkiye

³Trakya Üniversitesi Üniversitesi, Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, Genel Cerrahi AD., Endoskopi Ünitesi,
Edirne, Türkiye

Öz: Bu araştırmanın amacı kolonoskopi uygulanan hastaların işlem sürecinden memnuniyet durumlarını belirlemektir. Tanımlayıcı tipteki araştırma bir üniversitesi hastanesinin (Edirne, Türkiye) kolonoskopi ünitesinde 01 Mart 2019 – 30 Temmuz 2019 tarihleri arasında kolonoskopi uygulanan 129 hastanın katılımıyla gerçekleştirildi. Çalışma öncesinde etik kurul izni ve hastalardan gönüllü olurları alınmıştır. Veri toplamada “Kolonoskopi Memnuniyet Anketi” kullanıldı. Ankette puan aralığı 0-10 idi. Veriler SPSS 22.0 bilgisayar programı ile Ki-Kare ve Spearman korelasyon analizi kullanılarak analiz edildi. Hastaların yaş ortalamalarının 54,5±15,9 yıl, %55,8’inin (n=72) erkek, %61,2’sinin (n=79) ilköğretim mezunu olduğu belirlendi. Hastaların genel memnuniyet puan ortalamaları 6,7±1,7 olarak bulundu. Cinsiyetin, kolonoskopi yapılma zamanının ve deneyiminin genel memnuniyet puan ortalamalarının etkilediği belirlendi (p<0.05). Çalışmada kolonoskopi uygulanan hastaların süreçten genel olarak memnun oldukları belirlenmiştir. Kolonoskopi uygulanacak hastalarda hasta memnuniyetinin artırılması için hasta bakımında özellikle ilk kez kolonoskopi uygulanacak hastaların süreç hakkında daha özenli bilgilendirilmelerini, hasta bakımında özellikle tolere edilebilirliği daha iyi olan bağırsak hazırlığı uygulamalarının tercih edilmesini ve işlem günü ünite beklemeye sürelerinin kısaltılmasını önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Hasta memnuniyeti, Hasta, Kolonoskopi.

Abstract: The purpose of this study was to determine the satisfaction status of patients undergoing colonoscopy. This descriptive study was conducted between March 1 - July 30, 2019, at the colonoscopy unit of a university hospital (Edirne, Turkey) with 129 patients. Prior to the study, ethical permission and voluntary consent of the patients were obtained. Colonoscopy Satisfaction Questionnaire was used for data collection. Questionnaire was scored between 0-10. Data were analyzed using Chi-square and Spearman correlation analysis with SPSS 22.0 computer program. The mean age of the patients was 54.5 ± 15.9 years, 55.8% (n = 72) were male and 61.2% (n = 79) were graduated from primary school. The mean overall satisfaction score was found to be 6.7 ± 1.7 points. It was determined that gender, time of colonoscopy and experience were affected by the overall satisfaction score averages (p < 0.05). In the study, it was determined that patients who undergoing colonoscopy were generally satisfied with the process. In order to increase satisfaction of patients undergoing colonoscopy, we recommend that patients who undergo colonoscopy for the first time should be informed more carefully about the process, bowel preparation procedures with better tolerability should be preferred among the patient care and waiting times in the unit on the day of the colonoscopy procedure should be shortened.

Keywords: Patient satisfaction, Patient, Colonoscopy.

*Corresponding author : Zeynep KIZILCIK ÖZKAN e-mail : zeynepkizilcik26@hotmail.com

Geliş tarihi / Received : 21.01.2020

Kabul tarihi / Accepted: 19.08.2020

Giriş

Hasta memnuniyeti bireylerin sağlık hizmetleri hakkındaki beklentilerine karşı aldıkları hizmete ilişkin oluşturdukları kişisel değerlendirmeler

olarak tanımlanmaktadır (Apay ve Arslan, 2009; Mohan ve Kumar, 2011). Hasta memnuniyeti, hastayı, sunulan hizmeti, kurumun ve sağlık çalışanlarının hizmet sunumunun kalitesini kapsayan çok yönlü bir kavramdır (Apay ve Arslan,

2009). Hasta memnuniyeti, tedavi ve bakım kalitesinin değerlendirilmesinde, sağlık hizmeti etkinliğinin ve sağlık kuruluşlarının revizyon ihtiyacının belirlenmesinde, tespit edilen sorunlara çözümlerin oluşturulmasında önemli bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Hasta memnuniyetinin ölçülmesi, hizmet kalitesinin sürdürülmesi/geliştirilmesi ve memnuniyeti etkileyen faktörlerin belirlenmesi açısından önemlidir (Apay ve Arslan, 2009).

Günümüzde artan kronik hastalık ve kanser oranlarına bağlı olarak tanı ve tedavi amacıyla uygulanan endoskopik prosedürlerin sayısında da artış görülmektedir (Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2018; Keskinlik ve ark. 2015). Bunun bir sonucu olarak endoskopi hizmetinin kaliteli sunulması önemli bir gereksinim olarak ortaya çıkmaktadır (Rizk ve ark. 2015). Kolonoskopik işlemlerde işlem öncesinde yetersiz bilgilendirme (Lee ve ark., 2019; Lee ve ark. 2015; Loftus ve ark. 2013) uzun bekleme süresi (Fernandez-Landa ve ark. 2019; Lee ve ark. 2015; Loftus ve ark. 2013), ekip tarafından sergilenen profesyonel olmayan davranışlar (Galvez ve ark. 2017), endoskopi ünitelerindeki fiziksel ve medikal donanım yetersizliği (Loftus ve ark. 2013) gibi faktörlerin hasta memnuniyetini olumsuz etkilediği belirtilmektedir. Öte yandan, işlem öncesi randevu zamanının hatırlatılmasının (Galvez ve ark., 2017), işlemin konforlu bir şekilde gerçekleşmesinin (Fernandez-Landa ve ark. 2019) hasta memnuniyetini arttırdığı belirlenmiştir.

Hasta memnuniyetinin yüksek olması, hastaların kolonoskopi taramalarına tekrar katılımı için teşvik edici bir faktör olarak gösterilmektedir (Loftus ve ark. 2013). Kolonoskopi işlemi yetersiz bağırsak hazırlığı nedeniyle kaliteli görüntünün elde edilemediği, çekuma ulaşamama gibi nedenlerle işlemin tamamlanamadığı, bireyin kolorektal kanser açısından risk faktörü taşıdığı ve kolonoskopik incelemede adenom saptandığı durumlarda tekrar edilmelidir (Lebwohl ve ark., 2010; Krist ve ark., 2007). Bu noktada hastaların tekrar kolonoskopilerine katılımını sağlamak için memnuniyeti sağlamak önem arz etmektedir (Loftus ve ark. 2013). Bununla birlikte kolonoskopi işleminden memnun kalan hastaların

işlemin etkilerinden kurtulmalarının hızlı olduğu (Masaracchia ve ark., 1999) ve sağlık profesyonelleri ile işbirliği içinde olduğu belirtilmektedir (Crow ve ark. 2002). Kolonoskopi işleminin başarılı ve kaliteli yapılabilmesi için kolonoskopi sonrası hastaların memnuniyetinin değerlendirilmesi ve memnuniyeti arttıran ve azaltan faktörlerin belirlenmesi önerilmektedir (Waye ve ark. 2013; Lin ve ark. 2007).

Bu araştırmanın amacı kolonoskopi uygulanan hastaların işlem sürecinden memnuniyet durumlarını belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Tanımlayıcı tipteki araştırma Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi (Edirne, Türkiye) endoskopi ünitesinde 01 Mart 2019 – 30 Temmuz 2019 tarihleri arasında kolonoskopi uygulanan 129 hastanın katılımıyla gerçekleştirildi. Loftus ve ark.'ın 2013 yılında yaptıkları çalışmadaki bulguların dahilinde endoskopi için evde bekleme süresinden memnuniyete ilişkin saptanan mükemmellik oranına (%30) göre, %95 güven düzeyinde, %5 tolerans öngörerek örnekleme alınması gereken en az kişi sayısı 129 kişi olarak hesaplandı.

Örnekleme çeşitli endikasyonlar ile genel cerrahi polikliniği kolonoskopi ünitesine total kolonoskopi işlemi için başvuran hastalardan; araştırmaya katılmaya gönüllü olan, zihinsel engeli olmayan, 18 yaşını dolduran, okur yazar, Türkçe iletişim kurabilen hastalar dahil edildi.

Kolonoskopi süreci

Endoskopi ünitesinde kolonoskopi işlemleri için randevu verme işlemi mevcut randevu kayıtlarına ve hastaların tercihlerine göre hemşire tarafından yapılmaktadır. Hastaya randevu günü ve saati sözel olarak söylenmekte ve hazırlık sürecini anlatan bilgilendirme formunun üzerine yazılmaktadır.

Bağırsak hazırlığı uygulamaları hakkında bilgilendirme hemşire tarafından sözlü ve yazılı olarak yapılmaktadır. İşlemden üç gün önce hastaların berrak sıvı diyet (su, elma suyu, haşlanmış süzümüş tavuk veya et suyu, tanesiz

komposto) uygulaması istenmektedir. Bağırsak hazırlığında bölünmüş doz rejim uygulanmaktadır. Hastalardan işlemden bir gün önce öğlen ve gece olmak üzere iki adet Sodyum fosfat – oral solüsyon [45 ml] ve gece bir adet sodyum fosfat – rektal solüsyon [133 ml] ve işlem günü sabahı bir adet sodyum fosfat – rektal solüsyon [133 ml] kullanarak bağırsak hazırlığını tamamlaması istenmektedir. İşlemden bir gün önce saat 24:00'dan sonra oral alım durdurması gerektiği söylenmektedir.

Kolonoskopi ekibinde deneyimli tek hekim ve iki sabit hemşire yer almaktadır. Sabah kolonoskopileri sabah 8'den 12'ye kadar ve öğleden sonra kolonoskopileri saat 12'den 17:00'e kadar uygulanmaktadır. Tüm işlemlerde bilinçli sedasyon sağlamak için farklı dozlarda propofol uygulanmaktadır.

Veri toplama

Verilerin toplanmasında konuya ilişkin literatür incelemesi (Fernandez-Landa ve ark., 2019; Brottons ve ark., 2019; Ghouri ve ark., 2017; Eckardt ve ark., 2008; Lin ve ark., 2007) sonrası araştırmacılar tarafından oluşturulan, iki bölüm (kolonoskopi öncesi memnuniyet ve kolonoskopi sonrası memnuniyet) ve on yedi sorudan oluşan "Kolonoskopi Memnuniyet Anketi" kullanıldı. Memnuniyete ilişkin sorulara verilen "Hiç memnun kalmadım" yanıtı "0" puan ve "Çok memnun kaldım" yanıtı "10" puan olarak görsel analog skala ile değerlendirildi.

İşlem öncesinde endoskopi ünitesi bekleme odasında hastalardan anketin ilk bölümünde yer alan bireysel değişkenleri (yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi, kolonoskopi deneyimi, hastanede yatma durumu) ve kolonoskopi öncesi memnuniyet durumlarını (randevu gününe kadar evde beklenen zaman, endoskopi ünitesinin fiziksel donanımı, bağırsak hazırlığında uygulanan diyet, lavman, ağız yoluyla alınan ilaçlar, işlem hakkında yapılan bilgilendirme) sorgulayan soruları cevaplandırması istendi. İşlemden 45-60 dk. sonra hastalardan endoskopi ünitesi ayılma odasında işleme ilişkin değişkenler (kolonoskopi yapılma zamanı, gerektiğinde aynı şartlarda kolonoskopi yaptıрма isteği) ve kolonoskopi sonrası memnuniyet

durumlarını (işlem için beklenen zaman, işlem konforu, işlem sırasında anestezi (narkoz) uygulamasından, endoskopi ekibinin genel yaklaşımı,) sorgulayan anketin ikinci bölümünde yer alan sorulara cevap vermesi istendi.

İstatiksel analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 22.0 (Armonk, NY: IBM Corp, ABD) programından yararlanılarak Shapiro Wilk normalite testi, Ki-Kare, Spearman korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

Etik yaklaşım

Çalışma öncesinde üniversitenin bilimsel araştırmalar etik kurulundan izin (2018/435 protokol kodlu, 20/16 karar no'lu) alınmıştır. Araştırma öncesinde hastalara çalışma hakkında açıklama yapılarak verdikleri bilgilerin sadece bilimsel amaçlı olarak kullanılacağı bilgisi verildi ve sözlü olarak bilgilendirilmiş gönüllü izinleri alınmıştır.

Bulgular

Hastaların yaş ortalamalarının $54,5 \pm 15,9$ yıl, %55,8'inin ($n=72$) erkek, %61,2'sinin ($n=79$) ilköğretim mezunu olduğu belirlendi. Hastaların %93,8'inin günübirlik hasta olduğu tespit edildi.

Kadınların erkeklere ve kolonoskopi işlemi öğleden önce yapılanların öğleden sonra yapılanlara göre genel memnuniyet puan ortalamalarının daha yüksek oluşu istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Kolonoskopi deneyiminin genel memnuniyet puan ortalamalarını olumlu etkilediği belirlendi ($p < 0.05$). Gerekli olduğu takdirde tekrar kolonoskopi yaptırmayı kabul edeceğini bildiren hastaların memnuniyet puan ortalamalarının anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlendi ($p < 0.05$). Yaş ile genel memnuniyet puan ortalamaları arasında ilişki saptanmadı ($p > 0.05$), (Tablo 1).

Hastaların genel memnuniyet puan ortalamaları $6,7 \pm 1,7$ olarak belirlendi. Çalışmada en yüksek puan ortalamasına sahip ilk üç nedenin; endoskopi

ekibinin yaklaşımı, işlemde bilinçli sedasyon uygulanması ve işlem öncesinde bilgilendirilme yapılması olduğu belirlenirken, en düşük puan

ortalamasına sahip ilk üç nedenin; diyet, lavman uygulaması ve işlem günü endoskopi ünitesinde bekleme süresi olarak belirlendi (Tablo 2).

Tablo 1. Hastaların Bireysel ve Kolonoskopiye İlişkin Özellikleri (n=129).

Özellikler		Ort±SS		Toplam puan ortalaması	İstatistiksel değer
Yaş		54.5±15,9			r= 0,51 p=0,567
		n	%		
Cinsiyet	Kadın	57	44,2	7,0±1,7	*X ² =80,725 p=0,000
	Erkek	72	55,8	6,4±1,7	
Eğitim seviyesi	İlköğretim	79	61,2	6,9±1,5	*X ² =71,179 p=0,061
	Lise	26	20,2	6,5±2,4	
Endoskopi deneyimi	Üniversite	24	18,6	6,1±1,2	*X ² =71,179 p=0,000
	Evet	54	41,9	6,9±1,7	
Hastanede yatış durumu	Hayır	75	58,1	6,4±1,7	*X ² =23,275 p=0,839
	Günübirlik hasta	121	93,8	6,7±1,7	
Kolonoskopi yapılma zamanı	Yatan hasta	8	6,2	7,3±2,3	*X ² =57,348 p=0,030
	Sabah	72	55,8	7,2±1,7	
Gerektiğinde aynı şartlarda kolonoskopi yaptırma isteği	Öğleden sonra	57	44,2	6,0±1,4	*X ² =84,536 p=0,000
	Evet	85	65,9	7,3±1,7	
	Hayır	44	34,1	5,6±1,1	

n: Hasta sayısı, SS: Standart sapma, *Ki kare test, r: Spearman korelasyon analizi

Tartışma

Bu araştırmada kolonoskopi uygulanan hastaların kolonoskopi sürecinden memnuniyet durumları literatür doğrultusunda tartışılmıştır.

Kadınların erkeklere memnuniyet puan ortalamalarının daha yüksek oluşu istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (p<0.05). Lin ve ark. (2007) ve Ghouri ve ark. (2017) çalışmalarında cinsiyetin memnuniyet düzeylerini etkilemediği belirtilmişken, Fernandez Landa ve ark. (2019) cinsiyetin tek başına genel memnuniyet skorlarını

etkileyen bağımsız bir faktör olmadığını tespit etmişlerdir. Yoon ve ark. (2018) kolonoskopi sürecinden erkeklerin daha memnun kaldığını bildirmişlerdir. Çalışma sonuçları arasındaki farklılıkların kültürel özelliklerden kaynaklandığı düşünülebilir. Elde edilen sonuçlarına bakıldığında cinsiyetin hasta memnuniyeti üzerinde etkisini inceleyen yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Tablo 2. Hastaların Memnuniyet Durumu (n=129).

Memnuniyet durumu	Ort±SS
Kolonoskopi ekibi	8,5±1,7
Sedasyon	7,8±1,9
İşlem öncesi bilgilendirme	7,6±2,6
İşlem konforu	7,3±1,9
Ünitenin fiziksel donanımı	6,9±2,8
Randevu için evde bekleme süresi	6,4±2,6
Oral laksatif	5,8±3,2
Lavman	5,5±3,2
İşlem günü endoskopi ünitesinde bekleme süresi	5,5±3,2
Diyet	5,4±2,9
Genel memnuniyet	6,7±1,7

n: Hasta sayısı, SS: Standart sapma

Çalışmada kolonoskopi deneyiminin genel memnuniyet puan ortalamalarını olumlu etkilediği belirlenirken, literatürde (Mullitinovic ve ark., 2012; Koç ve ark., 2011) hastanede yatma deneyimi olan hastaların hastanede yatış öyküsü olmayan hastalara göre memnuniyet puan ortalamalarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hasta memnuniyeti geçmiş deneyimler ve geleceğe yönelik beklentilerden etkilenecek şekilde şekillendiği için (Vural ve ark., 2015), deneyimli hastaların tüm süreci önceden yaşayarak öğrenme avantajı memnuniyet puan ortalamalarına olumlu yansırken, ilk kez kolonoskopi uygulanacak olan hastaların süreç hakkında beklentileri ve belirsizliklerin memnuniyet puan ortalamalarına olumsuz yansıdığı görülmektedir. Çalışmada kolonoskopi işlemi öğleden önce yapılanların öğleden sonra yapılanlara göre genel memnuniyet puan ortalamalarının daha yüksek olduğu belirlenirken, Chan ve Goh (2012) çalışmalarında hastaların yaklaşık üçte birinin kolonoskopi işlemi günü uzun bekleme süresinden memnun kalmadığı belirlenmiştir. Literatürde öğleden sonra yapılan kolonoskopilerin sabah kolonoskopilerinden daha yüksek başarısızlık oranlarına sahip olduğu ve çift doz laksatif gereksiniminin olabildiği bildirilmektedir (Teng ve ark. 2016; Sanaka ve ark., 2006). Bir diğer çalışmada var olan endoskopisini iptal edip randevusunun sabah olmasını isteyen hastaların olduğu bildirilmiştir (Castro ve ark., 2019). Hastaların bağırsak hazırlığı süreci

nedeniyle bazı fiziksel problemler (halsizlik, baş dönmesi vb.) yaşayabildikleri (Özkan ve Fındık, 2018) göz önünde bulundurulursa işleme öğleden önce alınmaları memnuniyet puan ortalamalarının yüksek olmasını açıklayabilir.

Çalışmada hastaların %65,9'unun tekrar kolonoskopi yaptırmaya karşı istekli olduğu belirlenirken, literatürde hastaların %56-98,2'sinin tekrar kolonoskopi yaptırmaya karşı istekli olduğu belirlenmiştir (Loftus ve ark., 2013; Takhashi ve ark., 2005). Eckardt ve ark. (2008) bu oranı %92, Lee ve ark. (2015) %60,1 ve Lee ve ark. (2004) %78,4 olarak belirlemiştir. Memnuniyet puan ortalaması yüksek olan hastaların tekrar kolonoskopi yaptırma isteklerinin anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenirken, Loftus ve ark. (2013) yüksek memnuniyet puan ortalamalarının tekrar kolonoskopi yaptırma istekliliğine olumlu yansıdığına bildirmiştir. Pohl (2017) hasta memnuniyetinin işlemi tekrar yaptırma isteğini etkileyen bir faktör olduğunu belirtmektedir. Süreçten memnun kalan hastaların aynı hizmetten tekrar yararlanma istekliliklerinin de olumlu etkilendiği görülmektedir.

Hastaların genel memnuniyet puan ortalamaları 6,7±1,7 olarak belirlenirken, Lee ve ark. (2004) çalışmalarında bu çalışmadakine benzer şekilde puan ortalamasının 10 puan üzerinden 7,2±2,6 ve Hatoum ve ark. (2016) çalışmalarında hastaların genel memnuniyet puan ortalamasının 100 puan üzerinden 96,2±74,5 olduğu bildirilmiştir. Brotons ve ark. (2019) çalışmalarında hastaların % 79,5'inin genel olarak süreçten "memnun" olduğu, Wen ve ark. (2017) çalışmalarında hastaların %94,1'inin kolonoskopi deneyiminden memnun kaldığı belirlenmiştir. Loftus ve ark. (2013) hastaların %86'sının işlemden çok memnun veya memnun kaldığını belirtmişlerdir. Çalışma sonuçları hastaların genel olarak kolonoskopi sürecinden memnun kaldıklarını ortaya koymaktadır.

Bununla birlikte, çalışmada en yüksek puan ortalamasına sahip ilk üç memnuniyet nedeninin endoskopi ekibinin yaklaşımı, işlemde bilinçli sedasyon uygulanması ve işlem hakkında bilgilendirilme yapılması olduğu belirlenirken, Brotons ve ark. (2019) çalışmalarında, hastaların

endoskopi personelinden, endoskopi hekiminden ve işlem hakkında bilgilendirilmekten dolayı memnun oldukları bildirilmiştir. Sanders ve ark. (2018), Bistriz ve ark. (2018) endoskopist hekimin hasta memnuniyetinde en önemli faktör olduğunu belirlemişlerdir. Brotons ve ark. (2019) çalışmalarında hastaların endoskopi ekibinin profesyonel davranışlarından ve hoş yaklaşımlarından memnun kaldıklarını belirlemişlerdir. Çalışmaya katılan hastaların işlem sırasında uygulanan sedasyondan yüksek derecede memnun kaldıkları belirlenmiştir. Aljebreen ve ark. (2014) çalışmalarında sedasyon uygulanan hastaların genel memnuniyet puan ortalamaları sedasyon uygulanmayan hastalara göre anlamlı düzeyde yüksek belirlenmiştir. Yanık ve ark. (2007) üst gastrointestinal sistem endoskopisi uygulanan hastalarda sedasyon uygulanmayan gruptaki hastaların %86,4'ünün işlemden memnun kalmadıklarını belirlemişlerdir. Çalışma bulgularına benzer şekilde Lee ve ark. (2019) işlem hakkında bilgilendirme yapılmasından hastaların memnun olduğunu belirlemişlerdir. Brotons ve ark. (2019) işlem öncesi bilgilendirmesinden hastaların yüksek düzeyde memnun kaldığını bildirmişlerdir. Bistriz ve ark. (2018) çalışmalarında hekim/hemşire tarafından bilgilendirilmeden memnuniyet oranı %99,0-99,5 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonuçları endoskopi ekibinin, sedasyon uygulamanın ve işlem hakkında bilgilendirmenin genel memnuniyet puan ortalamaları üzerinde etkin bir payı olduğunu göstermektedir.

Çalışmada en düşük puan ortalamasına sahip ilk üç nedenin; diyet, lavman uygulaması ve işlem günü endoskopi ünitesinde bekleme süresi olduğu belirlendi. Bağırsak hazırlığı prosedürünün hastalar tarafından sürecin en kötü ve istenmeyen kısmı olarak kabul edilmesi (2013) çalışmada diyet ve lavmandan memnuniyetin en düşük puan ortalamasına sahip olmasının nedenini açıklayabilir. Fernandez-Landa ve ark. (2019) hasta memnuniyetinin işlem öncesi bekleme süresi kısa olan (otuz günden az), hastalarda daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Eckardt ve ark. (2008) işlem günü endoskopi ünitesinde bekleme süresi ile memnuniyet arasında negatif bir ilişki olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre hasta memnuniyetini bağırsak hazırlığı uygulamaları ve

uzun bekleme süresinin olumsuz etkilediği görülmektedir.

Sonuç

Çalışma bulguları kolonoskopi hastalarının süreçten genel olarak memnun olduklarını ortaya koymaktadır. Kolonoskopi uygulanacak hastalarda hasta memnuniyetinin artırılması için hasta bakımında özellikle ilk kez kolonoskopi uygulanacak hastaların süreç hakkında daha özenli bilgilendirilmelerini, hasta bakımında özellikle tolere edilebilirliği daha iyi olan bağırsak hazırlığı uygulamalarının tercih edilmesini ve işlem günü ünite beklem sürelerinin kısaltılmasını önermekteyiz.

Teşekkür

Çalışmaya katılan tüm hastalara teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Aljebreen, A., Almadi, M., Leung, F., 2014. Sedated vs unsedated colonoscopy: a prospective study. *World of Journal Gastroenterology* 20(17): 5113-5118. doi:10.3748/wjg.v20.i17.5113

Apay, S., Arslan, S., 2009. Bir üniversite hastanesinde yatan hastaların tatmin olma düzeyleri. *TAF Preventive Medical Bulletin* 8(3): 239-44.

Bistriz, L., Ennis-Davis, R., Mulgrove, A., Greenway, M., Veldhuyzen van Zanten, S., 2018. Patient satisfaction with endoscopy units: the Edmonton experience. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1(1): 99-100. doi: 10.1093 / jcag / gwy008.059

Brotons, A., Guilabert, M., Lacueva, F., Mira, J., Lumbreras, B., Pico, M., et al. 2019. The colonoscopy satisfaction and safety questionnaire (CSSQP) for colorectal cancer screening: a development and validation study. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(392): 1-15. doi:10.3390/ijerph16030392.

Castro, F.J., Al-Khairi, B., Singh, H., Mohameden, M., Tandon, K., Lopez, R. 2019. Randomized controlled trial: split-dose and same-day large volume bowel preparation for afternoon colonoscopy have similar quality of preparation. *Journal of Clinical Gastroenterology* (baskıda) doi: 10.1097 / MCG.0000000000001213

Chan, W.K., Go, K.L., 2012. Evaluation of patient satisfaction of an outpatient colonoscopy service in an Asian Tertiary Care Hospital. *Gastroenterology*

Research Practice 561893; 1-6.
doi:10.1155/2012/561893

Crow, R., Gage, H., Hampson, S., Hart, J., Kimber, A., Storey, L., et al., 2002. The measurement of satisfaction with healthcare: implications for practice from a systematic review of the literature. *Health Technology Assessment* 6(32): 11-20.

Eckardt, A., Swales, C., Bhattacharya, K., Wassef, W., Phelan, N., Zubair, S., et al. 2008. Open access colonoscopy in the training setting: which factors affect patient satisfaction and pain?. *Endoscopy* 40(2): 98-105. doi: 10.1055/s-2007-995469.

Fernandez-Landa, M., Aginagalde, A., Arana-Arri, E., Bujanda, L., Idigoras, I., Bilbao, I., et al. 2019. Quality indicators and patient satisfaction in colonoscopy. *Gastroenterology Hepatology* 42(2): 73-81.

Galvez, M., Zarate, A., Espino, H., Tijera, F., Awad, R., Camacho, S., 2017. A short telephone-call reminder improves bowel preparation, quality indicators and patient satisfaction with first colonoscopy. *Endoscopy International Open*. 05(12): E1172-e1178 doi: 10.1055 / s-0043-117954

Ghouri, A., Aslam, S., Memon, S., Ghani, M.H., Ahmad, S., Memon, A., 2017. Evaluation of patient satisfaction of endoscopic procedure at Liaquat University Hospital. *Isra Medical Journal* 9(2): 96-100.

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kanser Daire Başkanlığı, 2018. Yeni dünya kanser istatistikleri. <http://kanser.gov.tr/index.php/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri/860-yeni-d%C3%BCnya-kanser-istatistikleri-vay%C4%B1nland%C4%B1> (Erişim: 24.04.2018)

Hatoum, H., Lin, S., Joseph, R., Dahdal, D., 2016. Validation of a patient satisfaction scale in patients undergoing bowel preparation prior to colonoscopy. *Patient* 9(27):27-34. doi: 10.1007/s40271-015-0154-8

Keskinkılıç, B., Gültekin, M., Karaca, A.S., Öztürk, C., Boztaş, G., Karaca, M.Z., editörler. 2015. Türkiye kanser kontrol programı 2013-2018. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayını, Ankara.

Koç, Z., Sağlam, Z., Şenol, M., 2011. Patient satisfaction with the nursing care in hospital. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 31(3): 629-640. doi:10.5336/medsci.2009-16413

Krist, A., Jones, R., Woolf, S., Woessner, S., Merenstein, D., Kerns, W., et al. 2007. Timing of repeat colonoscopy disparity between guidelines and endoscopists' recommendation. *American Journal Preventive Medicine* 33(6):471-478. doi:10.1016/j.amepre.2007.07.039

Lebwohl, B., Wang, T., Neugut, A., 2010. Socioeconomic and other predictors of colonoscopy preparation quality. *Digestive Diseases and Sciences* 55: 2014–2020. doi: 10.1007/s10620-009-1079-7

Lee, E., Shafer, L.A., Walker, J., Waldman, C., Michaud, V., Yang, C., et al., 2019. Information experiences, needs, and preferences of colonoscopy patients. *Medicine* 98:20(e15738): 1-9. doi: 10.1097 / MD.00000000000015738

Lee, Y.J., Kim, S.E., Park, K.S., Chon, K.B., Jang, B.K., Chung, W.J., et al., 2015. Education for ward nurses influences the quality of inpatient's bowel preparation for colonoscopy. *Medicine* 94(34):e1423: 1-9. doi: 10.1097/MD.0000000000001423

Lee, D.W., Chan, A.C., Wong, S.K., Li, A.C., Sze, T.S., Chung, S.C., 2004. The safety, feasibility, and acceptability of patient-controlled sedation for colonoscopy: prospective study. *Hong Kong Medical Journal* 10(2): 84-8.

Lin, O., Schembre, D., Ayub, K., Gluck, M., McCormick, S., Patterson, D., et al. 2007. Patient satisfaction scores for endoscopic procedures: impact of a survey-collection method. *Gastrointestinal Endoscopy* 65: 775-781. doi:10.1016/j.gie.2006.11.032

Loftus, R., Nugent, Z., Graff, L.A., Schumacher, F., Bernstein, C.N., Singh, H., 2013. Patient satisfaction with the endoscopy experience and willingness to return in a central Canadian health region. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 27(5): 259-266.

Masaracchia, C., D'Addio, L., Federici, A., 1999. Written information: evaluation of an informative leaflet for patients undergoing colonoscopy. *Assistenza Infermieristica e Ricerca* 18(3): 140-146.

Milutinovic, D., Simin, D., Brkic, N., Brkic, S., 2012. The patient satisfaction with nursing care quality: the psychometric study of the Serbian version of PSNCQ questionnaire. *Scandinavian Journal of Caring Sciences* 26; 598–606. doi: 10.1111/j.1471-6712.2012.00969.x

Mohan, R., Kumar, K., 2011. A study on the satisfaction of patients with reference to hospital services. *International Journal of Business, Economics and Management Works* 1(3): 15-25.

Newcomb, P., Wilson, M., Baine, R., McCarthy, T., Penny, N., Nixon, C., et al. 2017. Influences on patient satisfaction among patients who use emergency departments frequently for pain-related complaints. *Journal of Emergency Nursing* 43(6): 553-559. doi: 10.1016/j.jen.2017.03.022

Özkan, Z.K., Fındık, U.Y., 2018. Kolonoskopi yapılan hastalarda eğitim kitapçığının etkinliğinin

değerlendirilmesi. Doktora tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

Pohl, H., 2017. Evaluating quality in endoscopy. *Endoscopy* 49(6):581-587. doi: 10.1055/s-0043-104380

Rizk, M.K., Sawhney, M.S., Cohen, J., Pike, I., Adler, D., Dominitz, J., et al. 2015. Quality indicators common to all GI endoscopic procedures. *Gastrointestinal Endoscopy* 81(1): 3-16. doi: 10.1016/j.gie.2014.07.055

Sanaka, M.R., Shah, N., Mullen, K.D., Ferguson, D.R., Thomas, C., McCullough, A.J., 2006. Afternoon colonoscopies have higher failure rates than morning colonoscopies. *American Journal of Gastroenterology* 101(12): 2726-2730. 10.1111 / j.1572-0241.2006.00887.x

Sanders, D., Bykov, D., Gentile, L., Telford, J.J., 2018. Shapley value analysis of factors affecting willingness to return to colon cancer screening. *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology* 1(2): 372. doi: 10.1093/jcag/gwy009.258

Takahashi, Y., Tanaka, H., Kinjo, M., Sakumoto, K., 2005. Sedation-free colonoscopy. *Diseases of the Colon & Rectum* 48(4): 855-859.

Teng, T.Y., Khor, S.N., Kailasam, M., Cheah, W.K., Lau, C.C.L., 2016. Morning colonoscopies are

associated with improved adenoma detection rates. *Surgical Endoscopy* 30(5): 1796-1803. doi: 10.1007/s00464-015-4448-7

Vural, F., Aydın, A., Fil, Ş., Torun, S., Vural, B., 2015. Bir devlet hastanesinde yatan hastalarda memnuniyete etki eden iki önemli faktör: iletişim ve hasta güvenlik kültürü Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 4(3): 335-346.

Waye, J.D., Aisenberg, J., Rubin, P.H., editors. 2013. Practical colonoscopy. John Wiley & Son's. London.

Wen, C., Jao, S., Hsiao, C., 2017. A modified bowel preparation regimen for colonoscopy providing the patients' satisfaction and convenience. *Medical Science Monitor* 23: 3123-3129 doi: 10.12659/MSM.905431.

Yanık, M., Erdenen, F., Müderrisoğlu, C., Bektaş, H., Sander, E., Dik, İ., 2007. Üst gastrointestinal sistem endoskopisi ve premedikasyonun oksijen saturasyonu ile klinik parametrelere etkisi. *İstanbul Tıp Dergisi*. 3: 1-7.

Yoon, J., Cha, J.M., Kwak, M.S., JEon, J.W., Shin, H.P., et al. 2018. Gastrointestinal endoscopy satisfaction questionnaire is a valid tool to measure patient satisfaction in Asian country. *Medicine* 97(29): 1-6.

Efficacy of Cyclosporine A 0.05% in the Treatment of Patients with Dry Eye Syndrome

Kuru Göz Sendromlu Hastaların Tedavisinde %0,05 Siklosporin A'nın Etkinliği

Özge ŞEVİK^{1*}, Özlem EVREN KEMER²

¹Biga State Hospital, Clinic of Ophthalmology, Çanakkale, Turkey

²Ankara State Hospital, Clinic of Ophthalmology, Ankara, Turkey

Abstract: Dry eye is one of the most common ocular diseases in the elderly population and has increasing importance. Aging, decreased hormones and systemic autoimmunity are among the common causes of dry eye disease. Although the etiology of dry eye can change, it is known that the main cause is the inflammation in both lacrimal glands and ocular surfaces. To evaluate the effectiveness of topical cyclosporine A (CsA) 0.05% which is an immunomodulatory agent in the treatment of dry eyes, total of 51 patients with dry eye syndrome were included in our study. Forty-six of the patients were female while 5 patients were male. The mean duration of medication use of the patients was 8.72 ± 3.59 months (6-16 months). There was a statistically significant difference between the pre-treatment Schirmer scores and Schirmer scores found in 1st, 6 th and last month controls of Sjögren and Non-Sjögren groups ($p < 0.05$) while there was no statistically significant difference between Sjögren and Non-Sjögren groups ($p > 0.05$). In conclusion, it was found that there was a significant increase in Schirmer and fluorescein TBUT scores and tear meniscus height of both Sjögren and Non- Sjögren groups.

Keywords: Dry eye, Cyclosporin A, Sjögren syndrome.

Öz: Kuru göz, yaşlı popülasyonda en sık görülen oküler hastalıklardan biridir ve önemi giderek artmaktadır. Yaşlanma, azalmış hormonlar ve sistemik otoimmünite kuru göz hastalığının yaygın nedenleri arasındadır. Kuru göz etiyojisi değişebilse de ana nedenin hem lakrimal bezlerde hem de oküler yüzeylerde inflamasyon olduğu bilinmektedir. Kuru gözün tedavisinde immün modülatör bir ajan olan topikal siklosporin A (CsA) % 0,05'in etkinliğini değerlendirmek için toplam 51 kuru göz sendromu hastası çalışmaya dahil edildi. Hastaların 41'i kadın, 5'i erkekti. Hastaların ortalama ilaç kullanım süresi 8.72 ± 3.59 ay (6-16 ay) idi. Tedavi öncesi Schirmer skorları ile Sjögren ve Sjögren olmayan grupların 1., 6. ve son kontrollerinde bulunan Schirmer skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p < 0.05$). Sjögren ve Non- Sjögren grupları arasında ise anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). Sonuç olarak hem Sjögren hem de Sjögren olmayan grupların Schirmer ve floresein TBUT skorlarında ve gözyaşı menisküs yüksekliğinde anlamlı bir artış olduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: Kuru göz, Siklosporin A, Sjogren sendromu.

*Corresponding author : Özge ŞEVİK
Geliş tarihi / Received : 24.04.2020

e-mail : ozgesevik@gmail.com
Kabul tarihi / Accepted: 19.08.2020

Introduction

Dry eye is one of the most common ocular diseases in the elderly population. Aging, decreased hormones and systemic autoimmunity (Sjögren's syndrome) are among the common causes of dry eye disease. Dry eye symptoms occurred due to Sjögren's syndrome affects approximately 1-2% of the population and more than 90% of patients are women (Bozkurt and Irkeç, 2013; Brignole et al., 2000).

The etiopathology of dry eye has been understood recently. Although the etiology of dry eye can change, it is known that the main cause is the inflammation in both lacrimal gland and ocular surface (Perry, 2008). According to the current findings, it is believed that the ocular surface can be returned to a more normal state by breaking the inflammatory chain preventing T cell activation and cytokine production (De Paiva et al., 2019; Stevenson et al., 2000).

It is thought that cyclosporine emulsion acts as a partial immunomodulator in patients having keratoconjunctivitis sicca associated with ocular inflammation and suppressed tear production (Sall et al., 2000). It has been demonstrated in the studies on surface conjunctival biopsy samples taken from dry eye patients where CsA suppressed the inflammatory process (Turner et al., 2000; Kunert et al., 2000).

In this study, the effectiveness of topical cyclosporine A (CsA) 0.05% which is an immunomodulatory agent in the treatment of dry eyes was investigated.

Materials and Methods

A total of 102 eyes of 51 patients (46 females, 5 males) who applied to Ankara Numune Training and Research Hospital 2nd Ophthalmology Department with dry eye complaints were included in the study. The study was carried out prospectively. The mean age of the patients was 49.9 ± 11.01 years. Twenty-nine patients were included in Sjögren group while 22 patients were in Non-Sjögren group. 54.9% of the patients were diagnosed as moderate, 23.5% mild and 19.6% severe dry eye. In the treatment, topical CsA 0.05% was applied as 2x1/day. The mean duration of medication use of the patients was 8.72 ± 3.59 months (6-16 months). The efficacy evaluation was based on the presence of punctate staining, fluorescein tear breakup time (TBUT), Schirmer test score and improvement in symptoms according to ODSI. Patients were evaluated three times in total as the 1st month control, 6th month control and last control.

Routine ophthalmic examination of patients including visual examination, intraocular pressure measurement and biomicroscopic examinations was carried out. The Ocular Surface Disease Index (OSDI), a subjective assessment scale to measure the degree of dry eye and its effect on visual function was used (Köksoy Vayisoğlu et al., 2019).

Having symptomatic dry eye disease despite standard treatment, Schirmer II test score of ≤ 15 mm/5 secs, corneal and interpalpebral

conjunctival staining, normal eyelid anatomy and blink function and corrected visual acuity of $\geq 20/100$ (0.2) were determined as the criteria to be included in the study. Patients with active ocular infection, ocular rosacea, eyelid diseases such as entropion and ectropion, severe blepharitis or inflammation of the edges of eyelids, patients who used contact lens during the study, had ocular surface surgery or trauma in the previous 12 months (e.g. LASIK), patients with recurrent herpetic keratitis, pregnancy, breastfeeding history, uncontrolled systemic disease, medication use which may affect tear function such as systemic cyclosporin A, anticholinergic, antihistamine and diuretic in the previous 3 weeks were excluded from the study. Patients were divided into two groups: Patients of ANA (Antinuclear antibody) positivity, RA (Rheumatoid arthritis), SLE (Systemic lupus erythematosus), MKDH (Mixed connective tissue disease), SS (Systemic sclerosis), Primary Sjögren Syndrome were included in Sjögren Syndrome group while the others were included in Non-Sjögren dry eye group.

One drop artificial tear for 5 times a day and one drop of topical Cyclosporine 0.05% (Restasis, Allergan, Waco, TX) emulsion for 2 times a day with an interval of 12 hours were prescribed. Patients were observed minimum 6 months to maximum 16 months for an average of 8.72 ± 3.59 months.

Whatman No 41 filter paper was used for the Schirmer II test. In order to evaluate the effect of medication on basal tear secretion, patients were tested after topical anesthesia (Proparacaine HCl) under dull illumination. In addition, patients were examined in terms of the presence of fluorescein TBUT, tear meniscus height and presence of corneal staining. Patients were investigated about their complaints and frequency of daily artificial tear drop use in the controls. SPSS statistical data analysis tool was used to evaluate all data statistically.

Results

Results of the cyclosporine ophthalmic 0.05% emulsion treatment on 102 eyes of 51 dry eye patients were evaluated. Forty-six of the patients were female while 5 were male. The age of the patients ranged between 28 and 72 and average age was found as 49.9 ± 11.01 years. Patients were observed minimum 6 months to maximum 16 months, for an average of 8.72 ± 3.59 months. Twenty-nine patients were Sjögren and 22 patients were Non-Sjögren. Twenty-two patients in Sjögren group had RA (Rheumatoid arthritis), 2 patients had SLE (Systemic lupus erythematosus), 1 patient had primary Sjögren's syndrome, 1 patient had SS (Systemic sclerosis) and 3 patients had ANA (+) (Antinuclear antibody). Patients were divided into two groups as those who used the medication for 6 months and for 1 year or more. Thirty patients used the medication for 6 months and twenty patients for 12 months or more.

In addition to rheumatic diseases, 2 patients had GVH (Graft Versus Host) disease. The mean dry eye duration of the patients was 3.16 ± 5.9 years. This duration was minimum 6 months and maximum 10 years. The mean visual acuity corrected according to Snellen chart of the patients was 0.71 ± 0.33 before the cyclosporine 0.05% treatment, it was found 0.69 ± 0.28 after 6 months of treatment and was 0.67 ± 0.27 in the

last control. The difference between the controls was not statistically significant ($p > 0.05$). Intraocular pressure value was 16.8 ± 5.1 mmHg before the treatment, after 6 months of treatment it was found 17.9 ± 6.8 mmHg and it was 17.2 ± 6.2 mmHg in the last control. This change was not statistically significant ($p > 0.05$).

In grouping patients according to OSDI score severity, it was found that most of the patients (54.9%) was in the moderate dry eye group. Twelve patients (23.5%) had mild dry eye disease and 10 patients (19.6%) was severe dry-eyed.

There was a statistically significant difference between the pre-treatment Schirmer scores and Schirmer scores found in 1st, 6th and last month controls of Sjögren and Non-Sjögren groups ($p < 0.05$) while there was no statistically significant difference between Sjögren and Non-Sjögren groups ($p > 0.05$). Comparing the Schirmer scores in the sixth month and last control (≥ 1 year), it was found that there was no significant difference for the right eye in Sjögren group ($p = 0.252$) while the difference was significant in the Non-Sjögren group ($p = 0.050$) (Table 1). The same comparison was made for the left eye and there was still no significant difference in the Sjögren group ($p = 0.269$) while there was a tendency of clinically and statistically significant difference in the Non-Sjögren group ($p = 0.057$) (Table 2).

Table 1. Comparison of Schirmer values for the right eye of Sjögren and Non-Sjögren groups obtained in the controls

Right Schirmer (mm)	Pre-treatment	1. Month	6. Month	Last
Sjögren	4.8 ± 3.5	9.8 ± 7.3	11.7 ± 5.6	12.1 ± 5.3
Non-Sjögren	4.9 ± 3.7	9.7 ± 4.7	12.5 ± 4.5	16.2 ± 6.3
Total	4.9 ± 3.6	9.8 ± 6.3	12.1 ± 5.1	14.1 ± 6.1

Table 2. Comparison of Schirmer values for the left eye of Sjögren and Non-Sjögren groups obtained in the controls

Left Schirmer (mm)	Pre-treatment	1. Month	6. Month	Last
Sjögren	5.06 ± 3.06	8.4 ± 4.02	11.5 ± 4.9	12.6 ± 6.05
Non-Sjögren	5.31 ± 3.52	10.3 ± 4.2	13.0 ± 4.7	15.4 ± 5.3
Total	5.1 ± 3.2	9.2 ± 4.1	12.1 ± 4.8	14.0 ± 5.7

The change in fluorescein TBUT value in the 1st, 6th and last month controls after the treatment is given in Table 3. In-group changes in the controls of both Sjögren and Non-Sjögren groups were

statistically significant compared to pre-treatment values ($p < 0.05$) while there was no statistically significant difference between the groups ($p > 0.05$).

Table 3. Tear BUT of Sjögren and Non-Sjögren groups in the controls

FKZ (Secs)	Pre-treatment	1. Month	6. Month	Last
Sjögren	7.5 ± 6.8	22.0 ± 11.9	31.7 ± 12.9	36.8 ± 12.0
Non-Sjögren	8.18 ± 7.02	20.1 ± 13.1	31.6 ± 10.4	42.8 ± 12.9
Total	7.8 ± 6.8	21.2 ± 12.3	31.6 ± 11.8	39.8 ± 12.5

In 38 (74.5%) of patients, fluorescein staining was not observed when they first applied, whereas 13 (25.5%) patients corneal punctate fluorescein staining. In the second control on the sixth month, staining disappeared both in two groups of patients. Considering the changes in controls,

there was a significant change in the Sjögren group ($p < 0.05$) while it was not significant in the Non-Sjögren group ($p > 0.05$). The difference between Sjögren and Non-Sjögren groups was not considered as statistically significant ($p > 0.05$) (Table 4).

Table 4. Comparison of Sjögren and Non-Sjögren groups in terms of corneal staining according to controls

Corneal Staining	Pre-treatment		1. Month		6. Month	
	No	Yes	No	Yes	No	Yes
Sjögren	21(55.3%)	8(61.5%)	28(59.6%)	1(33.3%)	29 (100%)	-
Non- Sjögren	17 (44.7%)	5(38.5%)	19(40.4%)	2(66.7%)	21 (100%)	-
Total Patients	38 (100%)	13(100%)	47(100%)	3(100%)	50(100%)	-

There was no statistical difference between the Sjögren and Non-Sjögren groups comparing the tear meniscus height in terms of the changes in controls ($p > 0.05$). In both Sjögren and Non-Sjögren groups, improvement in 1st control and 2nd control was significant compared to pre-treatment

($p < 0.05$) while the improvement in the last control was not significant compared to pre-treatment ($p > 0.05$). This finding was associated with the decrease in the number of patients examined the last control (Table 5).

Table 5. Comparison of Sjögren and Non-Sjögren groups in terms of tear meniscus height according to controls

	PT	1. Month	6. Month	Last
Sjögren				
>0.3mm	8 (27.6%)	17 (58.6%)	25 (86.2%)	9 (90%)
<0.3mm	21 (72.4%)	12 (41.4%)	4 (13.8%)	1 (10%)

Non- Sjögren				
>0.3mm	8 (36.4%)	16 (% 76.2)	17 (% 81.0)	8 (80%)
<0.3mm	14 (63.6%)	5 (% 23.8)	4 (% 19.0)	2 (20%)

Table 6. Comparison of OSDI score severity of Sjögren and Non-Sjögren groups in the first application and in the last control.

OSDI Score	First	Last
Sjögren	66.7 ± 22.02	4 0.48 ± 25.26
Non-Sjögren	64.3 ± 15.9	30.71 ± 16.84
All Patients	65.7 ± 19.54	36.3 ± 22.45

The change in OSDI scores severity of the groups before and after the treatment was compared (Table 6). The change in controls compared to pre-treatment was statistically significant both in two groups ($p < 0.05$). There was no significant difference between the two groups ($p > 0.05$).

There was also no significant difference between three groups created according to dry eye severity (Mild/ Moderate/ Severe) in terms of OSDI score percentage change ($p > 0.05$). However, the moderate dry eye group had the highest percentage of decrease (49.5%) during the treatment. Considering the in-group changes, the percentage of decrease in patients of Sjögren and Non-Sjögren groups was respectively 41.3%, 42.1% in mild dry eye cases, 44.5%, 41% in moderate dry eye cases and 31.8%, 48% in severe dry eye cases.

Table 7. Statistical comparison of the Schirmer and fluorescein TBUT control scores with the first control scores of the patients grouped according to dry eye severity

Severity	1. Month	6. Month	Last
Mild	P<0.008	P<0.008	$p > 0.008$
Moderate	P<0.008	P<0.008	P<0.008
Severe	$p > 0.008$	P<0.008	$p > 0.008$

The results of the comparison of the Schirmer and fluorescein TBUT scores in the first application

and controls in terms of dry eye severity were similar (Table 7). (Establishing Bonferroni correction, the same for right and left eye) In all moderate dry eye cases, the change observed in all controls compared to pre-treatment values was significant, whereas in mild dry eye cases, only the change in 1st and 2nd controls and in severe dry eye cases, only the change in 2nd control was significant. The non-significance in the last control of patients with severe dry eye disease was explained by the decrease in the number of patients from 10 to 4.

The most common complaint among patients related to medication was burning. The rate of burning was 70.5% in the first control, while it decreased to 35% in the last control. Stinging, blurred vision, redness, eyelid swelling and pruritus were among other complaints.

Patients were recommended to use artificial tears 5x1 per day in addition to CsA 0.05% treatment. In the last control, only 47% of patients was using artificial tears with the same frequency.

Discussion

The mechanism contributing to improvement of dry eye disease is a cytokine and receptor-related inflammatory process. This hypothesis was supported by revealing lymphocytic infiltration (Pflugfelder and De Paiva, 2017; Foulks et al., 2015) and proinflammatory cytokines (Guan et al., 2017) in the lacrimal glands of patients with dry eye disease occurred due to autoimmune systemic disease (Sjögren's syndrome).

Improvement in dry eye patients not having Sjögren's syndrome with CsA which is an immunomodulating agent suggested that dry eye may be a localized, cell-related inflammatory event (Ji et al., 2018).

CsA exerts its immunomodulatory effect by inhibiting early events in T lymphocyte activation cascade (14). Deveci et al. observed improvement in symptoms such as redness, light sensitivity and pain in 26 patients with Sjögren's syndrome at the end of 1st week and 1st month of topical CsA 0.05% use, and a significant increase in fluorescein TBUT and Schirmer scores (Deveci and Kobak, 2014). In the study carried out by Jain et al., Non-Sjögren dry eye patients showed a significant improvement (28.5%) in subjective symptoms such as sandblasting with CsA 2% prepared with olive oil, and an increase of 33% in Schirmer score was seen (Jain et al., 2007).

In a study on the reliability assessment of CsA ophthalmic 0.1% emulsion, 412 patients were observed for an average of 19.8 months and visual acuity decreased in 12.6% of the patients while it increased in 5.4% of them. This was explained by advanced age of patients and the emergence of other ocular defects. The increase of 0.18 mmHg in IOP compared to pre-treatment was not accepted as significant (Barber et al., 2005). In our study, there was no significant change in both vision and IOP levels after the CsA 0.05% treatment.

In a study on 146 patients, dry eye patients were treated for 6 and 12 months, and an improvement in the OSDI score was observed in 72% of patients (Perry and Donnenfeld, 2004). There was more improvement in severe dry eye cases than other cases. In our study, the mean improvement rate in the OSDI score was 55.2% for all patients. Considering the severity, maximum improvement was observed in moderate cases with a rate of 49.5% while minimum improvement was observed in severe dry eye cases with a rate of 38.6%.

Sall et al. (2000) investigated the efficacy and safety of cyclosporine in 877 moderate to severe dry eye patients (2 times a day for 2-6 months) and they found out that blurred vision ($p < 0.014$), dry eye ($p < 0.001$) and pruritus ($p < 0.038$) improved significantly. In the same study, there was a significant increase in Schirmer test result and a

significant decrease in corneal staining, blurred vision and frequency of artificial tear use ($p < 0.05$). In our study, most improved complaint was sandblasting while the most resistant complaint to the medication was pruritus. Increase in Schirmer score and decrease in corneal staining, blurred vision, and decreased frequency in artificial tear use were similarly significant.

In Stern's study investigating the difference between conjunctival T-cell subpopulation in Sjögren's and Non-Sjögren syndrome, no difference was found between the two groups in terms of cellular immunoreactivity (Stern et al., 2002). The fact that there was not statistically difference between the two groups in terms of the improvement in Schirmer, fluorescein TBUT and OSDI scores can be associated with this.

In the study of Lelli et al. (2006), topical CsA treatment was started for 16 GVHD and the symptoms of 10 patients (62.5%) improved, there was no change in the symptoms of 6 patients and 3 patients had burning and irritation. In our study, there were 2 cases with dry eye due to GVHD. In one of them, despite the current punctal occlusion treatment, punctate corneal staining and corneal filaments were observed. In both cases, staining was disappeared and there was a significant improvement in the Schirmer score after CsA treatment.

In CsA 0.05% treatment, side effects are mostly mild and temporary (Jain et al., 2007). The most common side effect in our patients was burning and this ratio was 70.5% in 1st month control and decreased to 35% in the last control. The ratio of discontinuing medication due to side effects was 5.8% among patients.

In conclusion, it was found that there was a significant increase in Schirmer and fluorescein TBUT scores and tear meniscus height of both Sjögren and Non-Sjögren groups in 1st month, 6th month and 1st year after administering CsA 0.05% emulsion form. However, the fact that there was no statistical difference between the two groups supports the view that the main cause of dry eye is localized cellular inflammation in

lacrimal gland. Quantitative improvement in parameters is a result of improving the underlying physiopathology of the disease. The improvement in moderate dry eye cases was more than the severe cases and this can be explained by the healthy tissue functioning in lacrimal gland which is less affected. In Sjögren group, medication use for one year and more did not provided a significant increase compared to 6 months use. Based on this finding, it may be suggested to use the medication for a maximum of 6 months in Sjögren cases. No medication-related severe ocular and systemic side effects were observed. Consequently, CsA is an effective formulation that maintains its currency and reliability in the treatment of dry eye until the effectiveness of other topical immunomodulatory agents is proven in the future.

References

- Barber, L.D., Pflugfelder, S.C., Tauber, J., Foulks, G.N., 2005.** Phase III safety evaluation of cyclosporine 0.1% ophthalmic emulsion administered twice daily to dry eye disease patients for up to 3 years. *Ophthalmology* 112(10), 1790-1794.
- Bozkurt, B., Irkeç, M., 2013.** Kuru gözün fizyopatolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Ophthalmol-Special Topics* 6(3), 1-7.
- Brignole, F., Pisella, P.J., Goldschild, M., De Saint Jean, M., Goguel, A., Baudouin, C., 2000.** Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 41(6), 1356-1363.
- De Paiva, C.S., Pflugfelder, S.C., Ng, S.M., Akpek, E.K., 2019.** Topical cyclosporine A therapy for dry eye syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 9(9) 10.1002/14651858.CD010051.
- Deveci, H., Kobak, S., 2014.** The efficacy of topical 0.05 % cyclosporine A in patients with dry eye disease associated with Sjögren's syndrome. *International Ophthalmology* 34(5), 1043-1048.
- Foulks, G.N., Forstot, S.L., Donshik, P.C., Forstot, J.Z., Goldstein, M.H., Lemp, M.A., Nelson, J.D., Nichols, K.K., Pflugfelder, S.C., Tanzer, J.M., Asbell, P., Hammitt, K., Jacobs, D.S., 2015.** Clinical guidelines for management of dry eye associated with sjögren disease. *The Ocular Surface* 13(2), 118-32.
- Guan, Q., Gao, X., Wang, J., Sun, Y., Shekhar, S., 2017.** Cytokines in Autoimmune Disease. *Mediators of Inflammation* 2017, 1-2.
- Jain, A.K., Sukhija, J., Dwedi, S., Sood, A., 2007.** Effect of topical cyclosporine on tear functions in tear-deficient dry eyes. *Annals of Ophthalmology (Skokie)* 39(1), 19-25.
- Ji, Y.W., Lee, J.L., Kang, H.G., Gu, N., Byun, H., Yeo, A., Noh, H., Kim, S., Choi, E.Y., Song, J.S., Lee, H.K., 2018.** Corneal lymphangiogenesis facilitates ocular surface inflammation and cell trafficking in dry eye disease. *The Ocular Surface* 16(3), 306-313.
- Köksoy Vayisoğlu, S., Öncü, E., Dursun, Ö., Dinc, E., 2019.** Investigation of dry eye symptoms in lecturers by ocular surface disease index. *Turkish Journal of Ophthalmology* 49(3),142-148.
- Kunert, K.S., Tisdale, A.S., Stern, M.E., Smith, J.A., Gipson, I.K., 2000.** Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Archives of Ophthalmology* 118(11), 1489-1496.
- Lelli, G.J., Much, D.C., Gupta, A., Farjo, Q.A., Nairus, T.M., Mian, S.I., 2006.** Ophthalmic cyclosporine use in ocular GVHD. *The Journal of Cornea and External Disease* 25(6), 635-638.
- Perry, H.D., 2008.** Dry Eye Disease: Pathophysiology, classification, and diagnosis. *The American Journal of Managed Care* 14 (3), 79-87.
- Perry, H.D., Donnenfeld, E.D., 2004.** Dry eye diagnosis and management in 2004. *Current Opinion in Ophthalmology* 15(4), 299-304.
- Pflugfelder, S.C., De Paiva, C.S., 2017.** The pathophysiology of dry eye disease: what we know and future directions for research. *Ophthalmology* 124(11S), 4-13.
- Sall, K., Stevenson, O.D., Mundorf, T.K., Reis, B.L., 2000.** Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA phase 3 study group. *Ophthalmology* 107(5), 631-639.
- Stern, M.E., Gao, J., Schwalb, T.A., Ngo, M., Tieu, D.D., Chan, C., Reis, B.L., Whitcup, S.M., Thompson, D., Smith, J.A., 2002.** Conjunctival T-cell subpopulations in Sjogren's and non-Sjogren's patients with dry eye. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 43(8), 2609-2614.
- Stevenson, D., Tauber, J., Reis, B.L., 2000.** Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the

treatment of moderate-to-severe dry eye disease: a dose-ranging, randomized trial. The cyclosporin a phase 2 study group. *Ophthalmology* 107(5), 967-974.

Turner, K., Pflugfelder, S.C., Ji, Z., Feuer, W.J., Stern, M., Reis, B.L., 2000. Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. *The Journal of Cornea and External Disease* 19(4), 492-496.

White, D.E., Zhao, Y., Jayapalan, H., Machiraju, P., Periyasamy, R., Ogundele, A., 2020. Treatment satisfaction among patients using anti-inflammatory topical medications for dry eye disease. *Clinical Ophthalmology* 14, 875-883.

Gebeliğin Erken Dönemlerinde Siçan Uterus Dokusunda Siklooksijenaz-2 (COX-2) Ekspresyonu Üzerine Heparin'in Etkisi

The Effect of Heparin on Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in the Rat Uterine Tissue During Early Pregnancy

Fatma ERYAVUZ¹ , Jale ÖNER^{2*} 

¹ Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur, Türkiye

² Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., Burdur, Türkiye

Öz: İmplantasyon sürecinin penetrasyon fazında, implantasyon alanı çevresinde vasküler değişimler meydana gelir. Bu vasküler fiziolojinin düzenlenmesinde etkili olduğu bilinen COX-2, tekrarlayan gebelik kayıplarının (TGK) etiolojisinde de önemli rol oynamaktadır. TGK'nın büyük oranda penetrasyon fazında ve gebeliğin 8-12. haftalarında oluşması, blastosist implantasyon sürecindeki olumsuzluklara bağlı olarak gelişebileceğini düşündürmektedir. TGK'nın tedavisinde, klinikte sıklıkla kullanılan düşük molekül ağırlıklı heparinin (DMAH), antikoagulan etkisinin yanında antiinflamatuvar etkilerinin de fayda sağlayabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu çalışmada, siçanlara gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerinde 50 IU/kg enaksoparin sodyum, intraperitoneal olarak uygulanmış ve toplanan uterus dokularında COX-2 immunlokalizasyonları belirlenmiştir. DMAH'in gebeliğin erken dönemlerinde siçan uterus dokusunda TGK etyolojilerinde yer aldığı bilinen COX-2 ekspresyonu üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmış ve DMAH uygulamasının, immunohistokimyasal seviyede ve semikantitatif gözlemde COX-2 immunekspresyonu üzerine bir değişiklik oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Erken gebelik, Siçan, Uterus, COX-2, Heparin.

Abstract: COX-2 known to be effective in regulating the vascular physiology, plays important role in etiology of the recurrent pregnancy loss. The formation of recurrent pregnancy loss widely in generation phase and at 8-12 weeks of gestation suggests that the blastocyst implantation process may be affected by the negativty of the blastocyst implantation process. It has been reported that, anticoagulant and anti-inflammatory effect of low molecular weight herarin can be usefull in recurrent pregnancy loss treatment. Rats were treated with 50 IU/kg enaxoparin sodium intraperitoneal in 0, 1, 3, 5 and 7 days of gestation and COX-2 immunolocalizations were determined in collected uterine tissues. It was examined whether if low molecular weight heparin effect on COX-2 expression involved in etiology of recurrent pregnancy loss and concluded that low molecular weight heparin treatment was not caused change on COX-2 immunoexpression at immunohistochemical level and semiquantitative observation.

Keywords: Early pregnancy, Rat, Uterine, COX-2, Heparin.

*Corresponding author : Jale ÖNER
Geliş tarihi / Received : 27.02.2020

e-mail : jaleoner@mehmetakif.edu.tr
Kabul tarihi / Accepted: 19.10.2020

Giriş

Embriyonun implantasyonu, endometriyum epiteline blastosistin bağlanmasıyla başlayan, belirgin plasentanın oluşumu ile sona eren, embriyo ve endometriyum arasında karmaşık etkileşimleri kapsar (Kenedy, 2007). İmplantasyonun ilk fark edilebilir işaretlerinden biri, desidual hücre reaksiyonunun başlangıcında ve blastosist apozisyon alanında endometriyal permeabilitede artıştır (Cong, 2006; Psychoyos, 1986). Endometriyum epitel hücrelerinde ve

stromal hücrelerde, endoplazmik retikulum ve çekirdekte yerleşmiş olan siklooksijenazlar da (COX) endometriyumdaki değişikliklere eşlik ederek, implantasyon esnasında anjiogenezisin oluşumu ve vasküler geçirgenliği artırmak suretiyle endometriyumun alıcı hale gelmesine katkı sağlamaktadır.

Şimdiye kadar belirlenmiş üç COX izoformu bulunmakla beraber, özellikle COX-1'in doğum esnasında önemli rol oynadığını ve COX-2'nin ise ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve

desidualizasyon esnasında önemli rol oynadığını ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır (Chakraborty, 1996; Cong, 2006).

Yapılan çalışmalarda tekrarlanan gebelik kaybında (TGK), endometriyumda COX-2 mRNA seviyelerinin düşük olduğuna ilişkin bilgiler mevcuttur (Wang, 2010). TGK'ya neden olan etyolojik faktörlerin hepsi incelense de TGK nedeniyle başvuran hastaların yaklaşık yarısında belirgin bir neden saptanamamaktadır (Alataş, 2004). TGK nedenleri içerisinde yer alan Antifosfolipid sendromu (APS), TGK olgularının %5-15'inde görülmektedir. APS'de gebelik kaybı için altta yatan mekanizma plasental vasküler trombozdur. Antifosfolipid antikorları/ β 2-glikoprotein kompleksleri maternal spiral arterlere trofoblast proliferasyonunu ve invazyonunu inhibe etmekte ve plasentada doku ölümü, nekroz ve trombozlara neden olmaktadır (Chambley, 1998; Güven, 2006). Başta APS olmak üzere nedeni bilinmeyen TGK'ların tedavisinde profilaktik amaçlı olarak düşük doz aspirin ve subkutan heparinin kombine tedavisi yaygın şekilde kullanılmaktadır (Duz, 2015, Kutteh, 1996). Bu çalışma ile TGK'larda gebeliğin sürdürülmesinde olumlu etkileri saptanmış olan düşük molekül ağırlıklı heparinin, klinikte kullanılmasına bağlı olarak, gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda TGK etyolojilerinde yer aldığı bilinen COX-2 ekspresyonu üzerinden de bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığından alınan Etik Kurul Raporu (25.11.2015 tarih, 154 sayılı rapor) sonrasında yapılmıştır. Çalışmada Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarından temin edilen, her grupta 6 adet olmak üzere toplam 60 adet (yaklaşık 180-200 gr ağırlığında, 10-12 haftalık) yetişkin Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Çalışma süresince sıçanlar, ayrı kabinlerde standart yem ile su verilerek, 21°C'de, %55 nem oranında ve 12 saat karanlık/aydınlık olacak şekilde tutuldu. Vajinal smear ile östrus

evresinde oldukları belirlenen dişi sıçanlar, 1 gece erkek sıçanlar ile (2 dişi/1 erkek) birlikte bırakıldı. Ertesi sabah tekrar vajinal smearde sperme rastlanan dişi sıçanlar gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi. Gebeliğin 0. gününden itibaren her gün gebe sıçanlara 50 IU/kg enoxaparin sodyum (4000 anti-Xa) intraperitoneal olarak enjekte edilerek bu sıçanlar Heparin uygulanan gruba dahil edildi. Gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerini dolduran gruplardaki sıçanlar rompun (5mg/kg) ve ketamin (60mg/kg) kombinasyonu ile genel anestezi altında servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanarak anterior abdominal duvar açılıp uterus dokuları alındı. İmmunohistokimyasal analizler için alınan uterus dokuları trimlenerek fikzasyon için %10 formaldehit solüsyonu içine konuldu. Alınan örneklerde immunohistokimyasal prosedür uygulanarak COX-2 immunlokalizasyonları belirlendi. Elde edilen preparatlar Nikon E 600 ışık mikroskobu ile görüntülenerek gruplara ait doku örnekleri immunboyanma şiddeti açısından semikantitatif olarak skorlandı. Bu skorlanmada boyanma şiddetleri; - (boyanma yok), + (zayıf), ++ (orta) ve +++ (güçlü) olarak derecelendirildi (Tablo 2, 3).

Çalışmada kullanılan sıçanlar Tablo 1'de olduğu gibi deney gruplarına dahil edildi.

Tablo 1. Deney grupları.

Deney Grupları	
Grup I	Gebeliğin 0. günü heparin uygulanan grup
Grup II	Gebeliğin 0. günü kontrol grup
Grup III	Gebeliğin 1. günü heparin uygulanan grup
Grup IV	Gebeliğin 1. günü kontrol grup
Grup V	Gebeliğin 3. günü heparin uygulanan grup
Grup VI	Gebeliğin 3. günü kontrol grup
Grup VII	Gebeliğin 5. günü heparin uygulanan grup
Grup IX	Gebeliğin 5. günü kontrol grup
Grup XI	Gebeliğin 7. günü heparin uygulanan grup
Grup X	Gebeliğin 7. günü kontrol grup

Bulgular

COX-2 İmmunlokalizasyonu

0.Gün: Endometriyum ve myometriyum normal yapıda gözlemlendi. Her iki grupta endometriyumda COX-2 immunlokalizasyonu lumen ve bez epitel hücrelerinin sitoplazmalarında, az sayıda subepitelyal ve endometriyal stromal hücrede, myometriyum ve kapiller duvarında orta şiddette (++) gözlemlendi. Gebeliğin 5. gününe kadar desidual reaksiyon alanı oluşmamıştı (Şekil 1,2,11,12).

1.Gün: Gebeliğin 1. gününde uterusun mikroskopik yapısı ve COX-2 immunreaksiyon alanları 0. gün ile benzerlik taşımakta idi. Subepitelyal ve endometriyal stromada COX-2 pozitif reaksiyon gösteren hücre sayısında artış mevcuttu (Şekil 3,4,13,14).

3.Gün: Gebeliğin 3. gününden itibaren kontrol ve heparin enjekte edilen gruplarda lumen ve bez epitel hücrelerinde ve myometriyumda COX-2 immunreaksiyonunun şiddetlendiği (+++) gözlemlendi. Subepitelyal ve endometriyal stromada ve kapiller duvardaki COX-2 immunreaksiyonu 1. gün ile benzerlik göstermekte idi (Şekil 5,6,15,16).

5.Gün: En belirgin yapısal değişiklik bezlerin sayılarının oldukça azalmış, kapillerlerin miktarının ise artmış olduğu idi. İmplantasyonun ilk belirleyici işaretlerinden biri olan desidual reaksiyon alanı, primer desidual reaksiyon alanı (PDR) şeklinde doğru lumen epitelinin altında yayılmış, ancak lumen epitelinden stromaya doğru dar bir alanda gözlenmeye başlamıştı. COX-2 immunreaktivitesi her iki grupta da lumen ve bez epiteli, kapillerler, PDR ve bu alanın dışındaki endometriyal stromal alanlardaki hücrelerde ve myometriyumda güçlü (+++) şekilde gözlemlendi (Şekil 7,8,17,18).

7.Gün: Uterus lumeni iyice küçülmüş, endometriyal stromadaki hücreler tamamen desidua hücrelerine dönüşmüş, kapillerlerin yoğun olduğu PDR alanının dışında mezometriyal alana doğru sekonder desidual reaksiyon alanı (SDR) belirginleşmişti. Bezler oldukça küçük ve myometriyuma yakın yerleşimde idi. COX-2 immunreaktivitesi PDR alanına göre SDR alanında daha yoğundu. Her iki grupta immunreaktivite alanlarında boyanma şiddeti güçlü (+++) idi (Şekil 9,1,19,20).

Tablo 2. Kontrol gruplarında gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semikantitatif analizi.

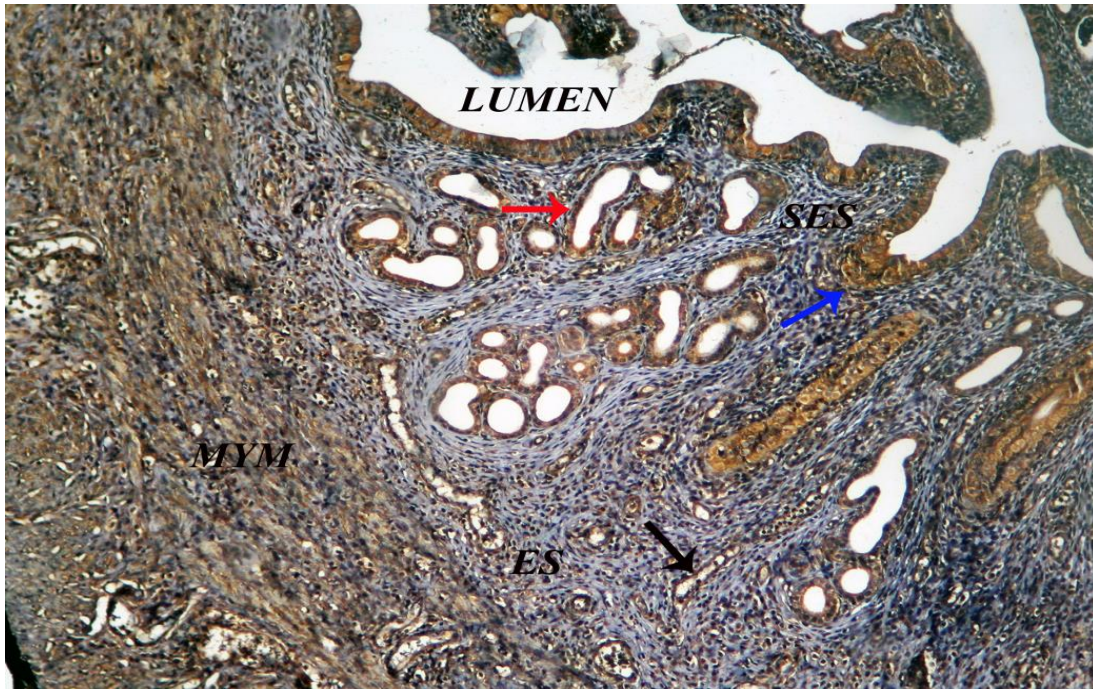
Gruplar	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	SES	ES	MYM	PDR	SDR	Kapiller
0. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
1. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
3. Gün	+++	+++	++	++	+++	Yok	Yok	++
5. Gün	+++	+++	PDR	+++	+++	+++	Yok	+++
7. Gün	+++	+++	PDR	SDR	+++	++	+++	+++

SES: Supitelyal stroma; **ES:** Endometrial stroma; **MYM:** Myometriyum;
PDR: Primer desidual reaksiyon alanı; **SDR:** Sekonder desidual reaksiyon alanı

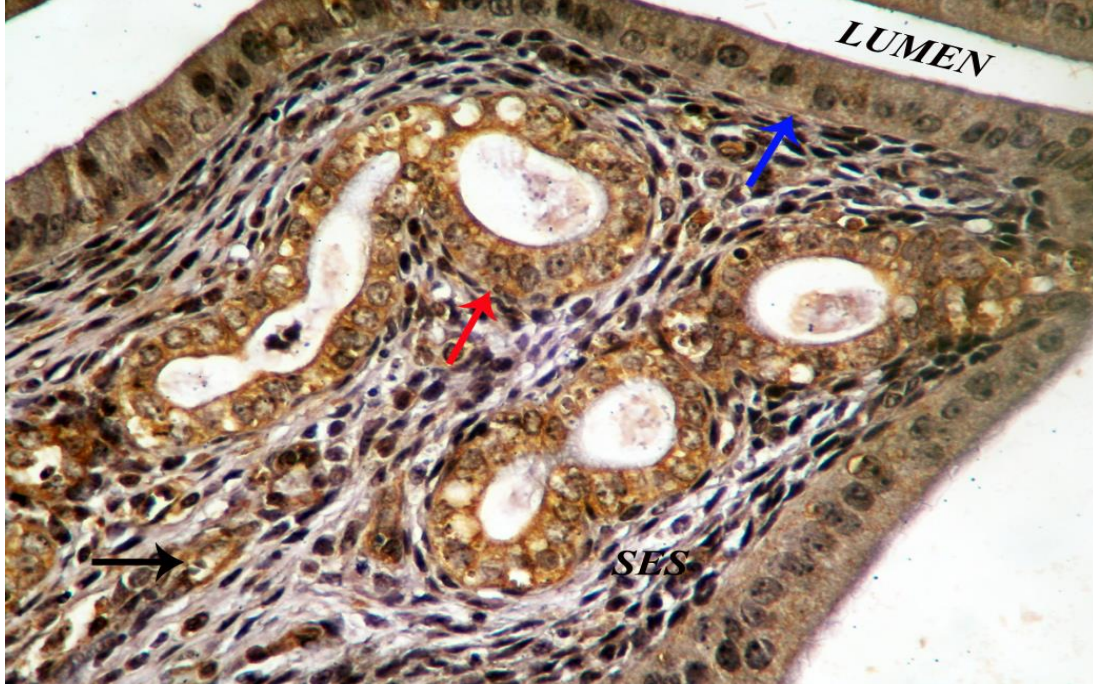
Tablo 3. Heparin uygulanan gruplarda gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semikantitatif analizi.

Gruplar	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	SES	ES	MYM	PDR	SDR	Kapiller
0. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
1. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
3. Gün	+++	+++	++	++	+++	Yok	Yok	++
5. Gün	+++	+++	PDR	+++	+++	+++	Yok	+++
7. Gün	+++	+++	PDR	SDR	+++	++	+++	+++

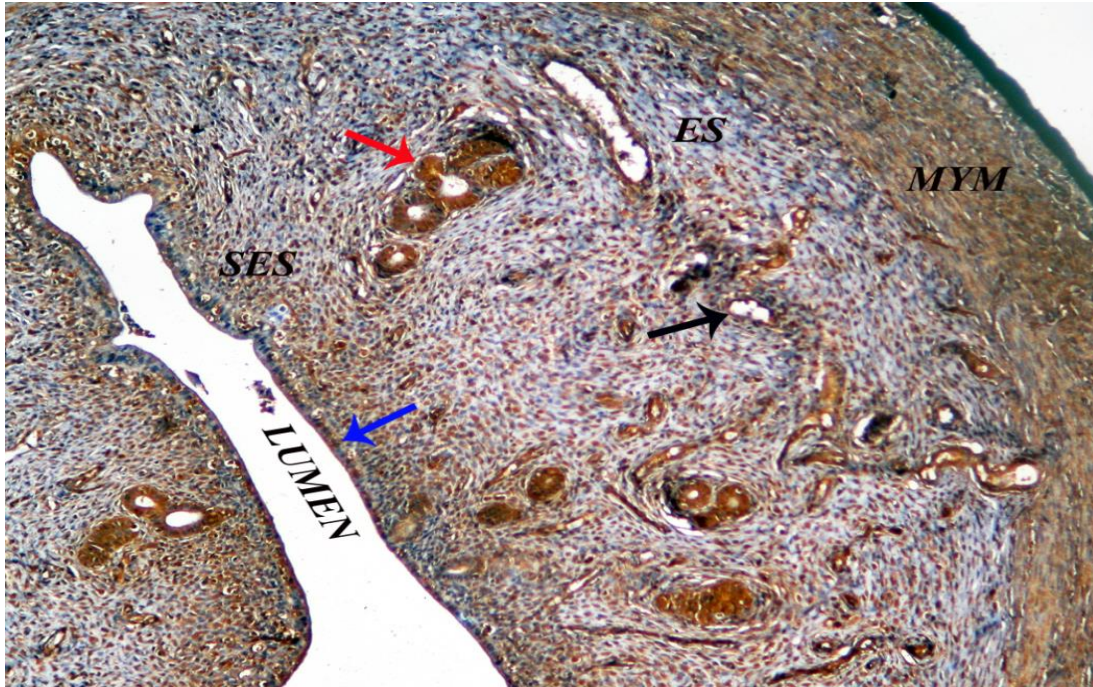
SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum;
PDR: Primer desidual reaksiyon alanı; SDR: Sekonder desidual reaksiyon alanı



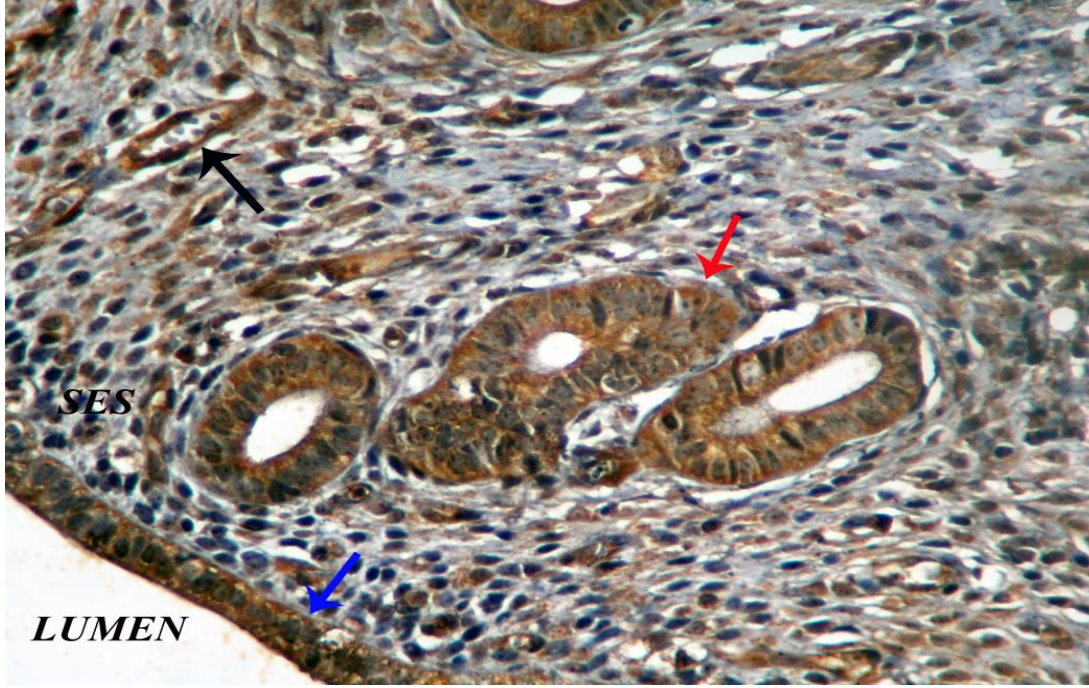
Şekil 1. Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



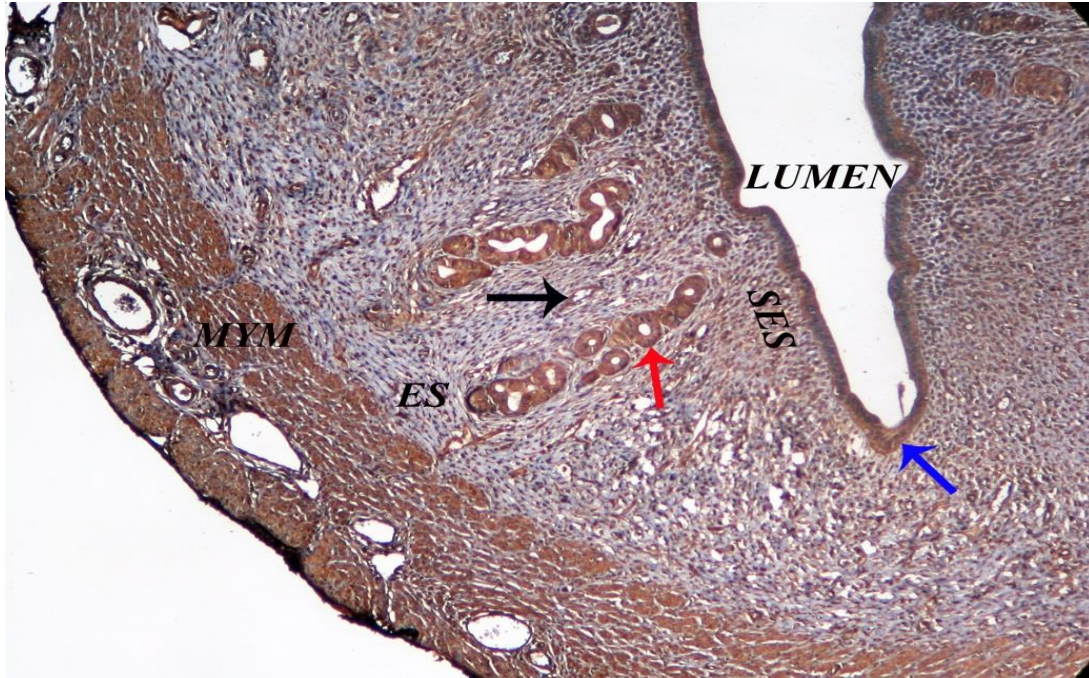
Şekil 2. Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



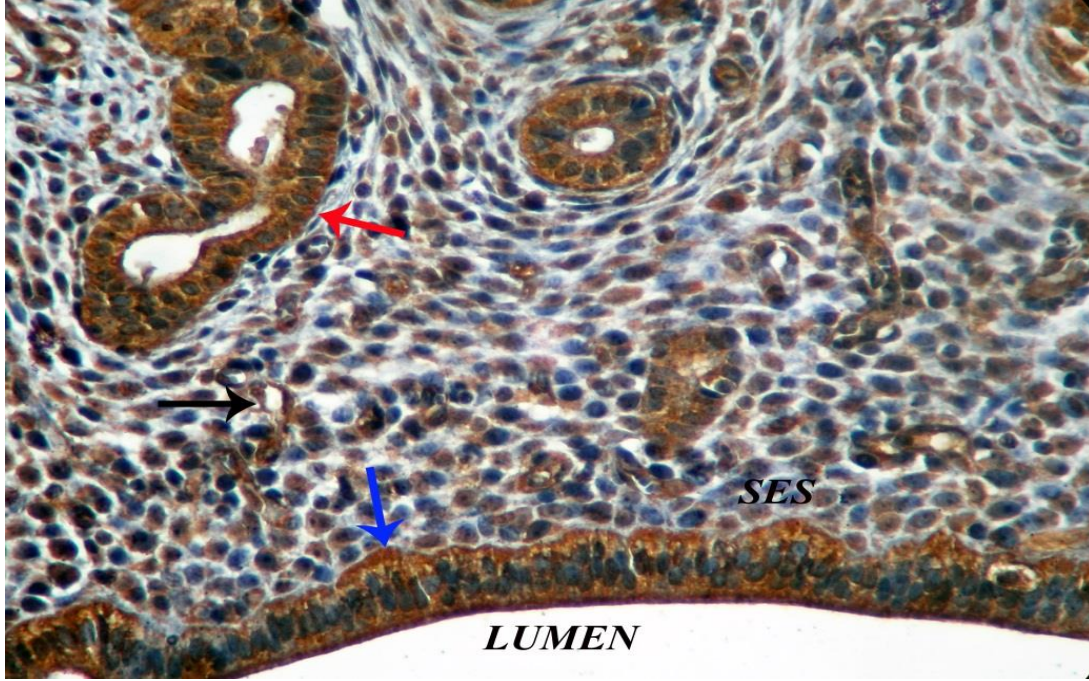
Şekil 3. Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



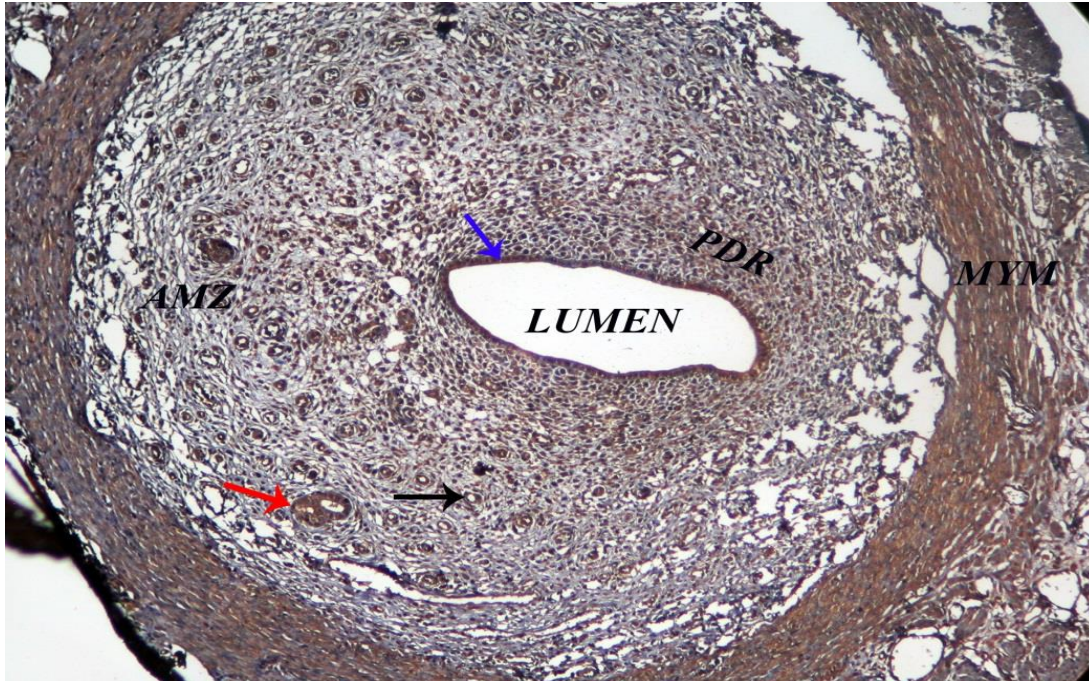
Şekil 4. Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



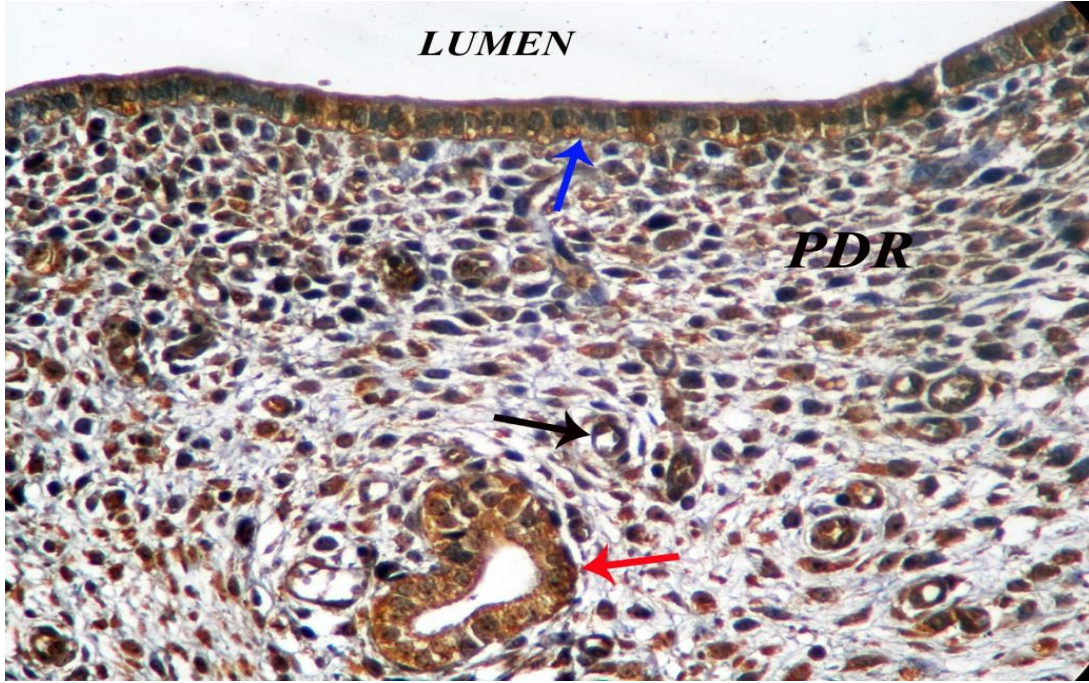
Şekil 5. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



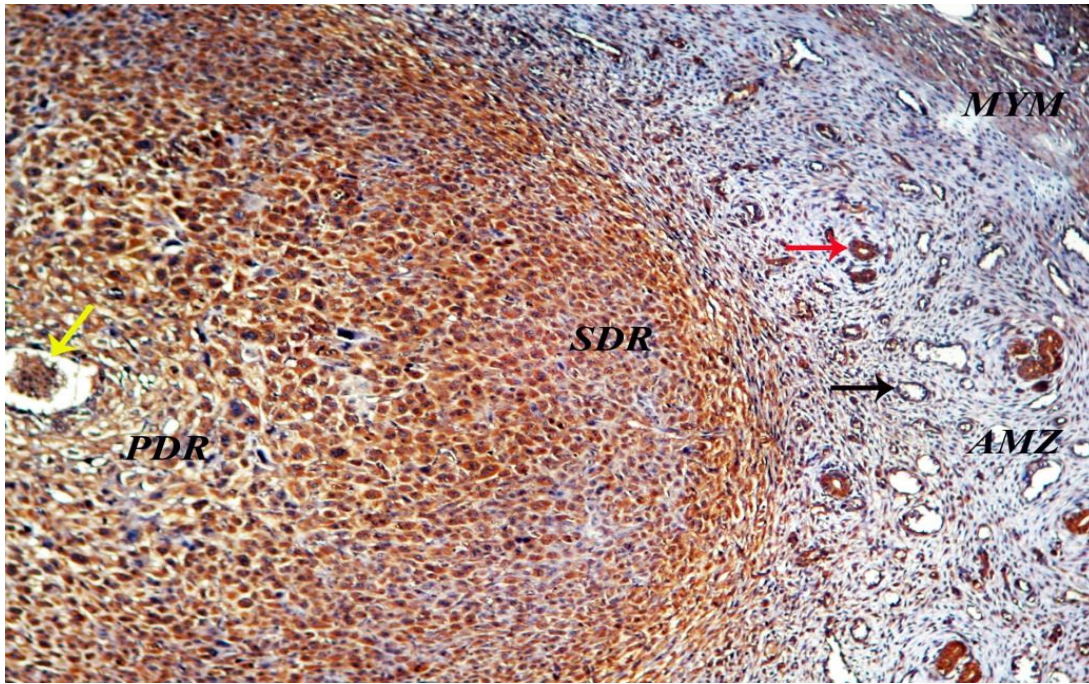
Şekil 6. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



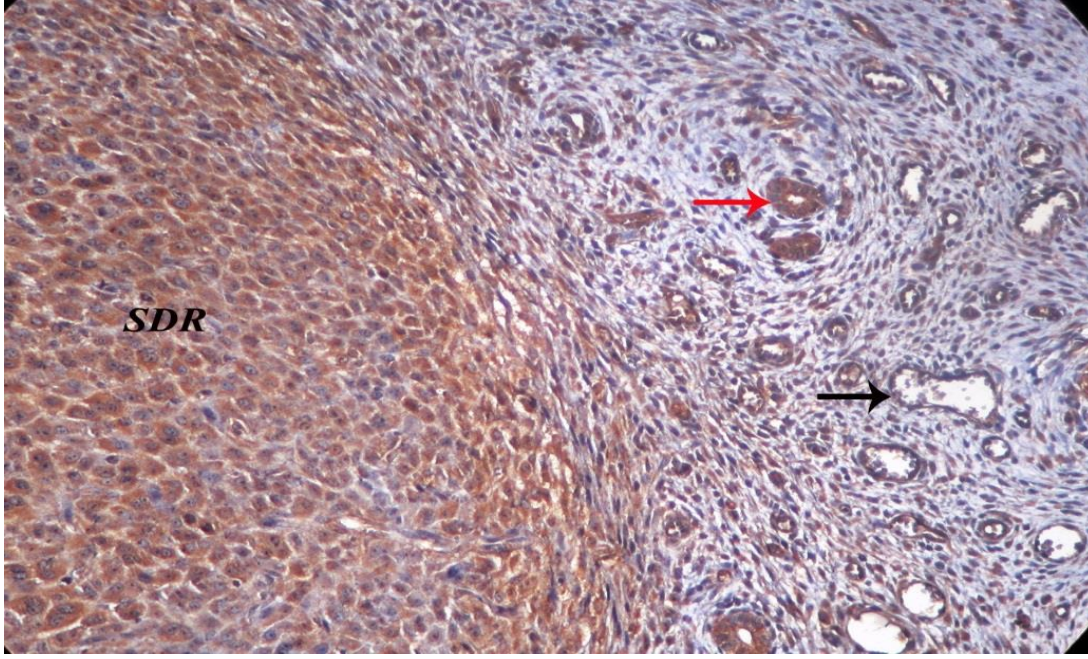
Şekil 7. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



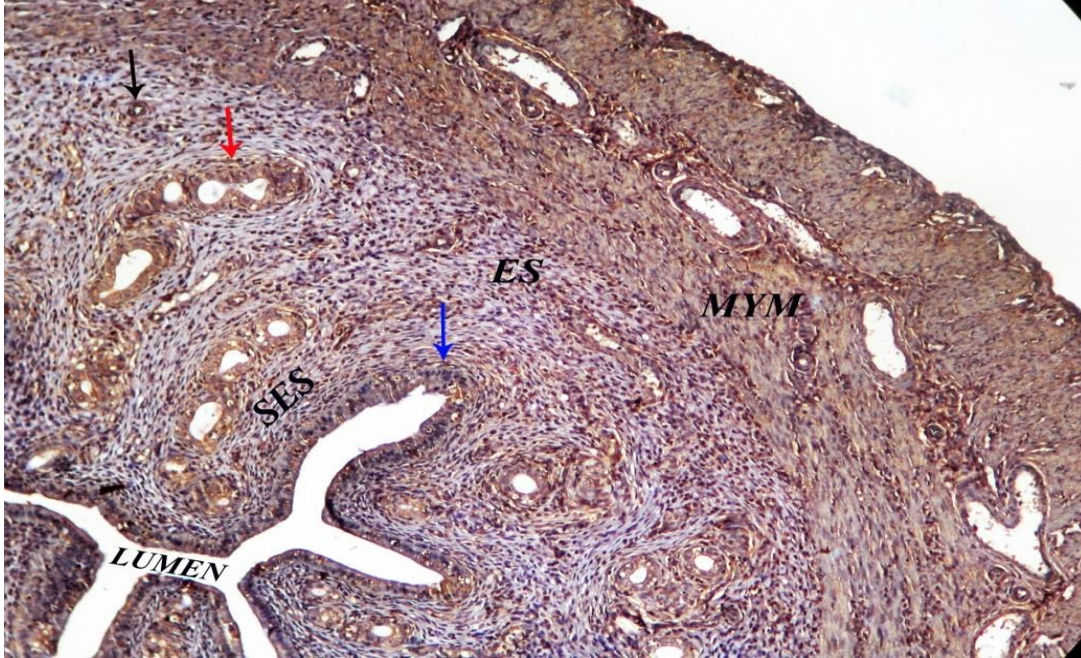
Şekil 8. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



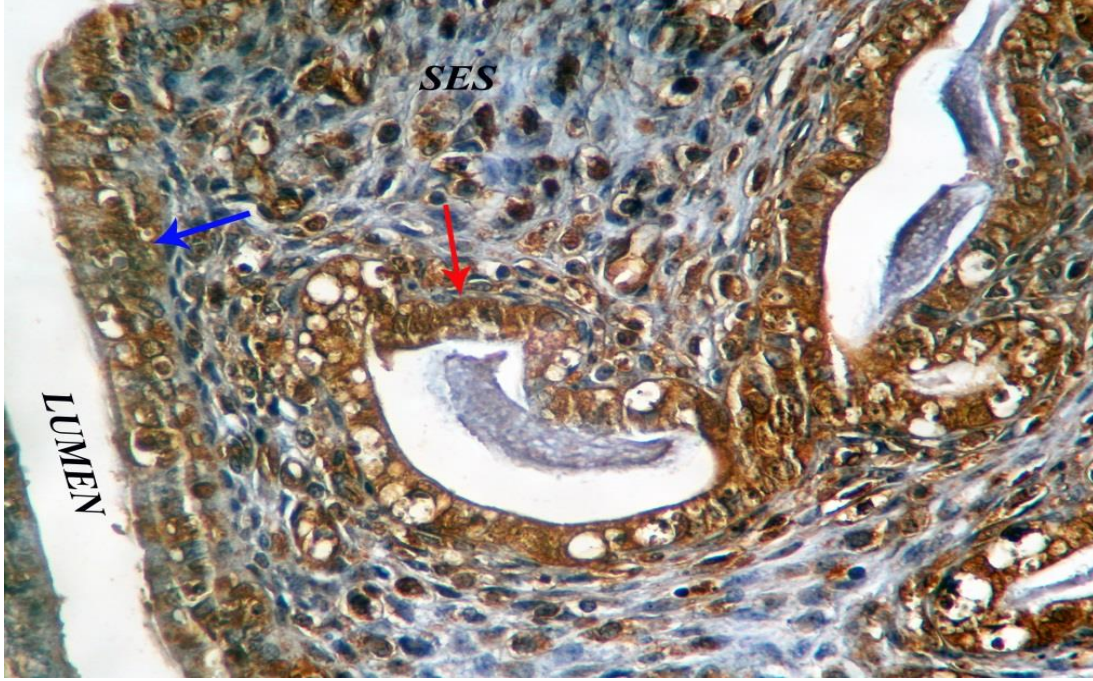
Şekil 9. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. AMZ: Antimezometrial Alan, PDR: Primer Desidual Reaksiyon, SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller; sarı ok: Embriyo. X100.



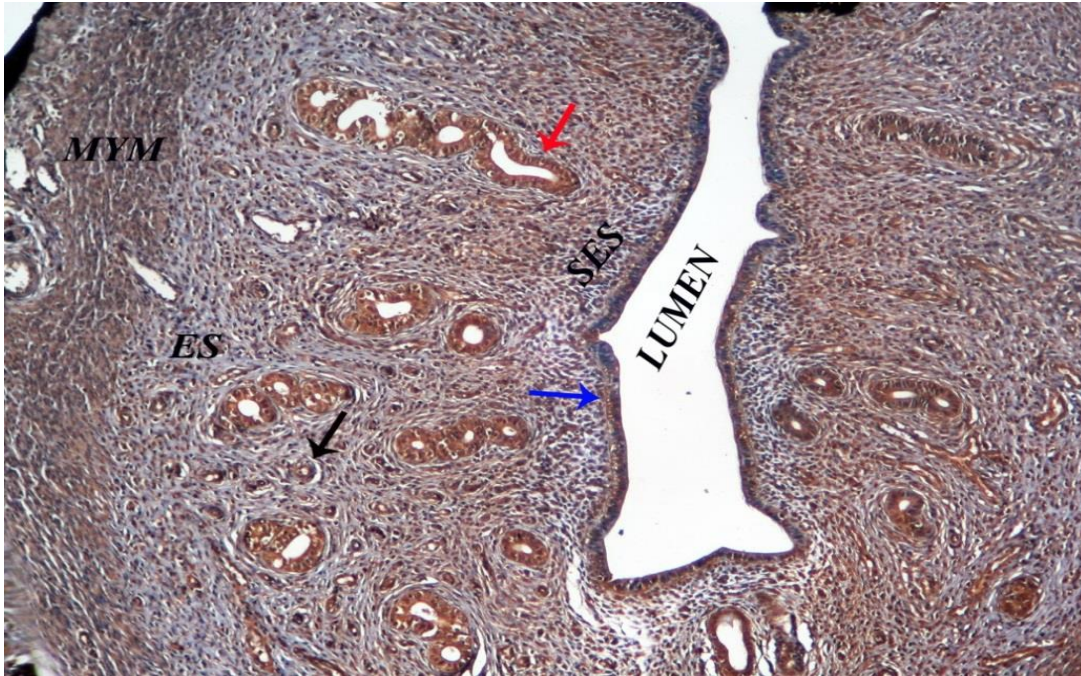
Şekil 10. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X200



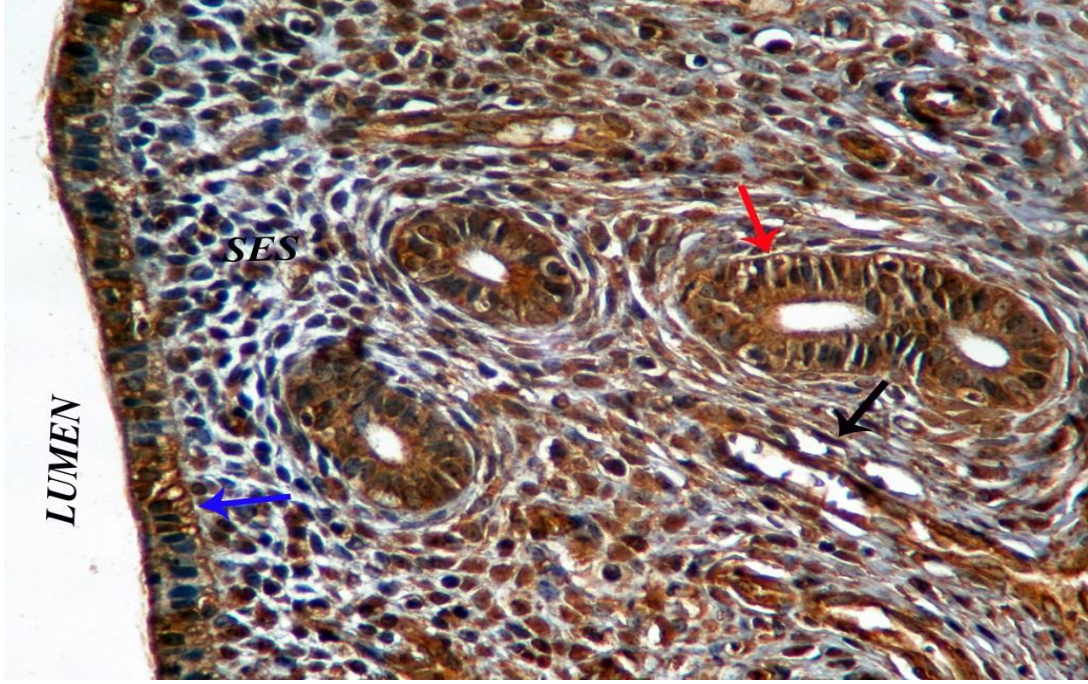
Şekil 11. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



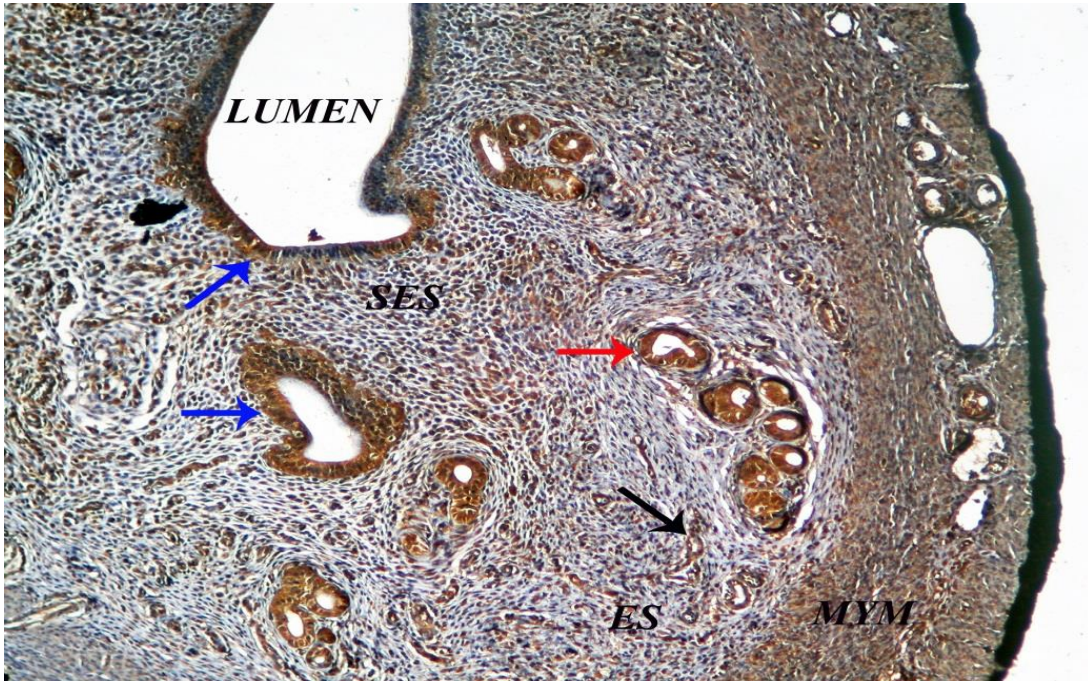
Şekil 12. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli. X400.



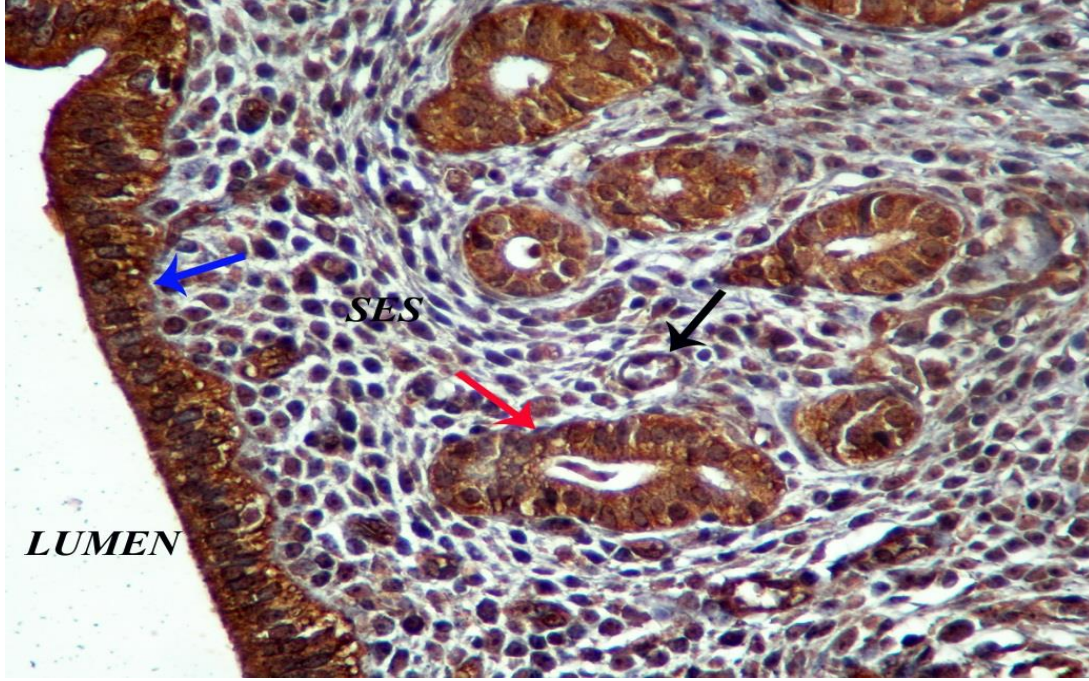
Şekil 13. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



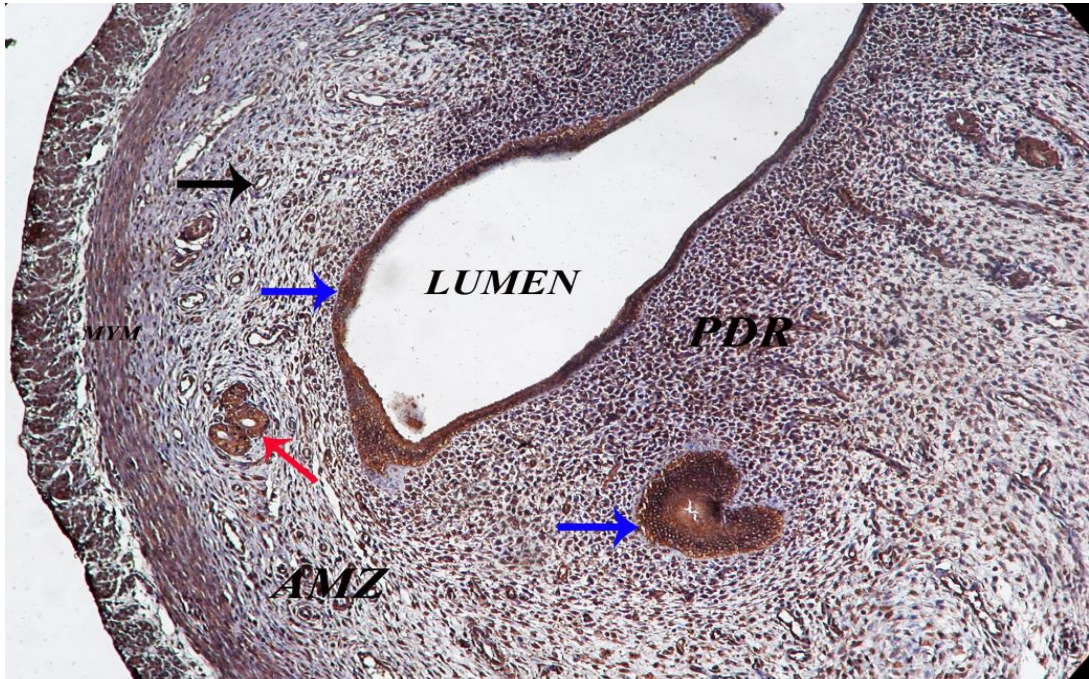
Şekil 14. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



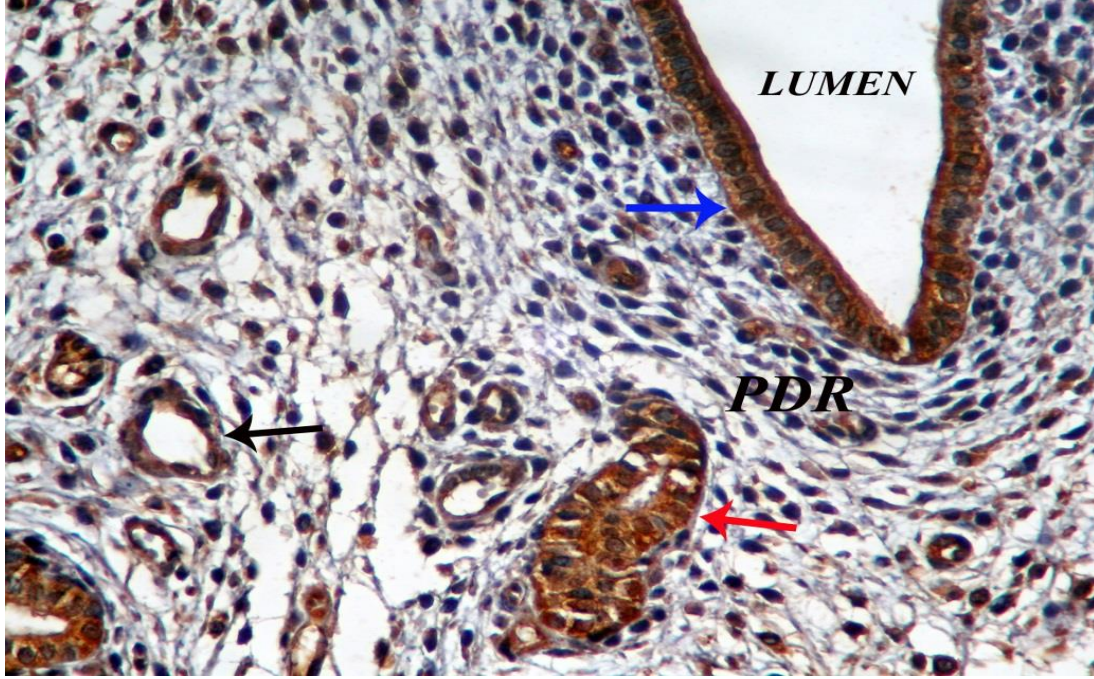
Şekil 15. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



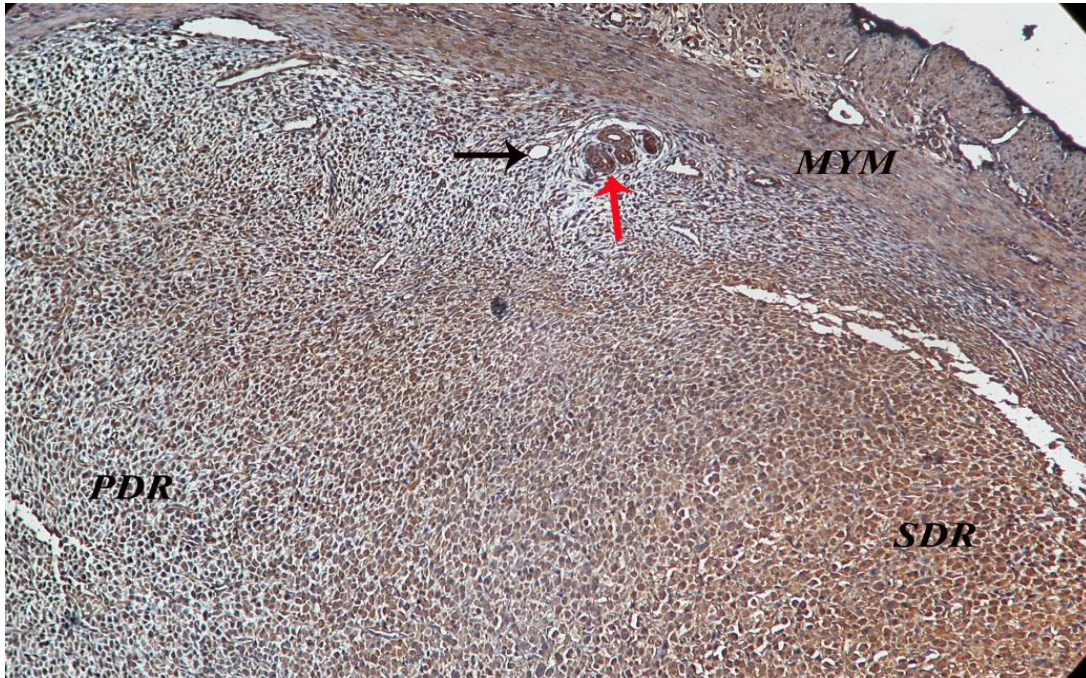
Şekil 16. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



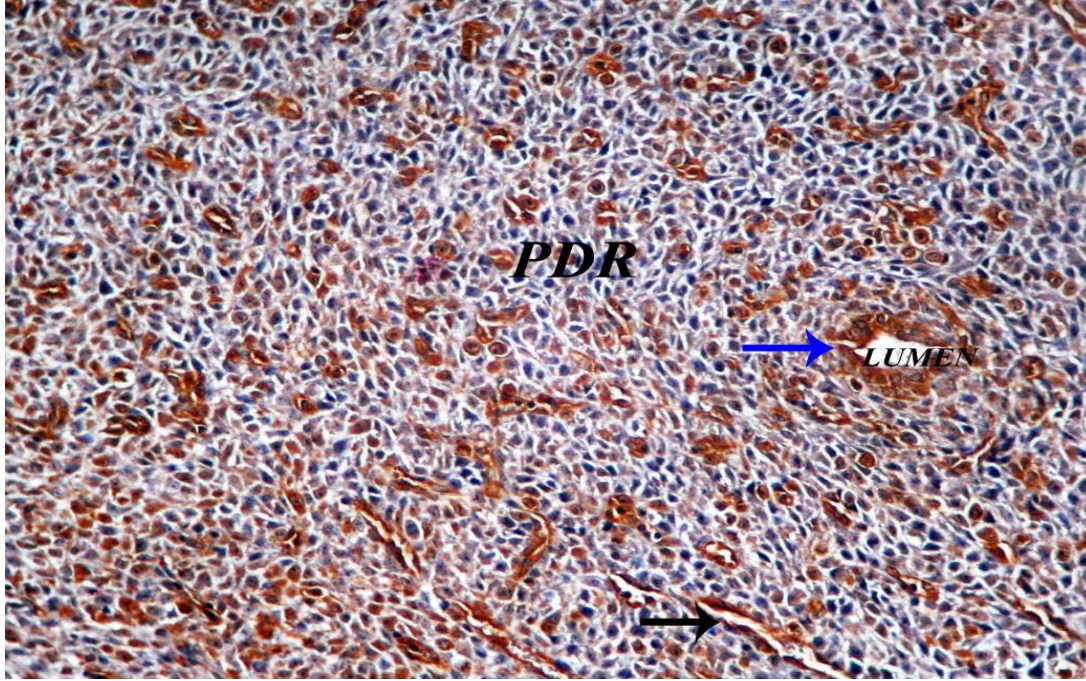
Şekil 17. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



Şekil 18. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



Şekil 19. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; SDR: Sekonder Deasidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



Şekil 20. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; siyah ok: Kapiller. X200.

Tartışma

İmplantasyonda etkili moleküllerden önemli bir tanesi olan Prostaglandinler (PG) hücre çoğalması, farklılaşması ve bağışıklık fonksiyonlarına ilaveten anjiogenezis ve damar tonusu gibi damar fizyolojik fonksiyonları da düzenlemektedir. Ayrıca PG'lerin üreme sürecinin düzenlenmesine ve gebeliğin başarılı bir biçimde şekillenmesine büyük katkı sağladığı bilinmektedir (Mondal, 2009; Mor, 2015). Araşidonik asitten prostaglandin sentezinde hız sınırlayıcı olarak işlev gören siklooksijenazların izoformlarından birisi olan COX-2'nin embriyonun gelişim sürecinde etkili olduğu bildirilmiştir (Wang, 2010). Bu nedenle biz çalışmamızın bir bölümünde sıçanlarda erken gebelik esnasında implantasyona kadar olan dönemde uterus dokusunda COX-2 immunlokalizasyonunu belirledik ve daha önce bu alanda yapılan çalışmalarla karşılaştırdık.

Gebeliğin çeşitli dönemlerinde fare (Chakraborty, 1996), koyun (Charpigny, 1997), inek (Arosh, 2002), at (Boerboom, 2004), babun (Kim, 1999) ve domuz (Blitek, 2006) endometriyum dokularında yapılmış olan çalışmalarda COX-2 ekspresyonunun farklı türlerde farklı profiller sergilediği ortaya

konulmuştur. Gebe sıçanlarda immunohistokimya tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada, gebeliğin 1 ve 2. günlerinde sıçan uterusunda COX-2 immun boyamanın olmadığı, 3 ve 4. günlerde COX-2 immun boyamasının subluminal stroma hücrelerinde düşük seviyede, dağınık popülasyonda, 5. günün sabahında lumen epitelinin altında stromal hücrelerde ağırlıklı olarak, 6. günde implantasyon alanında stromal hücrelerde lokalize olduğu fakat antimezometriyal alanda primer desidual bölgede belirlenmediği, yine 6. günde inter-implantasyon alan üzerinde antimezometriyal alanlarda, lumene yakın tüm stromal hücrelerde fazlasıyla belirlendiği bildirilmiştir. 7. günde ise hem sekonder desidual bölgede hemde desidual hücre katmanında lumen epitelinin altında COX-2 immun pozitivitenin mevcut olduğu ancak primer desidual reaksiyon alanının geri kalan kısmında gözlenmediği kaydedilmiştir. Sıçan uterusunda COX-1'in implante olmuş blastosisti çevreleyen lumen epitelinde, COX-2'nin ise subluminal stromal hücrelerde belirlenmesi sonucunda yazarlar, COX-1 ve COX-2 kaynaklı PG'lerin sıçan implantasyonunda önemli rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (Cong, 2006). Gebe sıçanlar üzerinde yaptığımız mevcut çalışmada ise, gebeliğin 0 ve 1. günlerinde uterus lumen ve bez epitel hücreleri,

stromal hücreler, myometriyum ve kapiller duvarında orta şiddette (++) COX-2 immun ekspresyonunu gözlemledik. 3. günde ise COX-2 immun ekspresyonunun güçlü seviyeye (+++) ulaştığını tespit ettik. İlk 3 gün boyunca normal yapıda gözlemlediğimiz gebe uterus yapısının gebeliğin 5. günü ile beraber değişmeye başladığını, implantasyonun ilk belirleyici işaretlerinden biri olan PDR alanının belirlediğini ve COX-2 immun reaktivitesinin şiddetinin 3. günde bildirdiğimiz alanlara ilaveten PDR alanında da güçlü (+++) olduğunu kaydettik. Gebeliğin 7. gününde ise, PDR alanı dışında SDR alanı da belirginleşmişti ve SDR alanındaki COX-2 immun reaksiyonu PDR alanına göre daha güçlü idi. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalarda da bildirildiği üzere COX-2 ekspresyonunun PG üretiminde artışa yol açmak suretiyle konseptusun implantasyonunda ve desidualizasyonunda da rol oynayabileceği hipotezini desteklemektedir.

Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıpları (ATGK)'nın çoğunluğunun penetrasyon fazı ve ötesinde, gebeliğin 8-12. haftalarında meydana geldiği, bu nedenle TGK'nın blastosist implantasyonunun penetrasyon oluşumundaki anormalliklerine bağlı olabileceği düşünülmüştür (Wang, 2010). Bu konuya açıklık getirmek üzere özellikle insanlarda TGK'da COX-2 ekspresyonuna ilişkin değişik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birisi de Hua (2013) ve arkadaşlarının farelerde otoimmunité kaynaklı gebelik kaybı oluşturdukları deney modeli ile normal gebe fare uteruslarında COX-2 ekspresyonunu karşılaştırdıkları çalışmalarıdır. Bu çalışmanın sonunda, immunohistokimya, ELISA ve PCR teknikleri ile COX-2 proteininin gebe fare desiduasında çekirdek ve sitoplazmada var olduğu ve immun ekspresyonları, serum seviyeleri ve mRNA ekspresyonlarının deney gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, otoimmunité kaynaklı TGK'larda maternal-fötal temas yüzeylerinde azalan COX-2 ekspresyonunun PG ekspresyonunda azalmaya yol açarak embriyo kaybına neden olabileceği ve bu şekilde COX-2'nin otoimmün TGK'nın patogenezisinde önemli bir rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır. Zhang (2016) ve arkadaşlarının preeklampsi ve

normal gebe insan desidua dokusunda COX-2 immun ekspresyonu ile ilgili yaptıkları bir diğer çalışmada, hem normal gebelik grubunda hem de şiddetli preeklampsi grubunda, desidua dokularında, COX-2'nin eksprese olduğu ve normal gebelik grubuna nazaran şiddetli preeklampsi grubunda COX-2 protein ekspresyonunun belirgin şekilde azalmış olduğu ortaya koyulmuştur. TGK'daki temel patolojinin plasental trombozlar olması sebebi ile antikoagulan tedavinin gebelikte başarı şansını artırabileceği düşünülmektedir (Çimen, 2011). Bununla beraber son günlerde, DMAH'nin koagülasyon üzerine direkt etkiye sahip olmasının yanı sıra inflamasyonu azaltması, implantasyonu desteklemesi ve komplement aktivasyonunu engellemesi ile gebeliği koruyabileceğine dair hipotezler ileri sürülmüştür (D'ippolito, 2011). Di Simone (1997) ve arkadaşları heparinin in vitro olarak trofoblast farklılaşması ve invazivitesinde önemli bir artış sağladığını bildirmişlerdir. Bazı yazarlar heparinin doğrudan ya da dolaylı olarak blastosistin endometriyum epiteline tutunması ve invazyonunda etkili olduğunu, bunun yanısıra antikomplement etkiye sahip olması nedeni ile gebelik kayıplarını önlediğini öne sürmüşlerdir (Whalport, 2001).

Yukarıda açıklandığı üzere heparinin TGK'ları önlenmesindeki etki mekanizmalarını açıklamaya dair, çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İmplantasyondaki rolleri araştırılmasına rağmen, normal gebe uterus dokusunda, TGK'nın etyolojisinde de rol oynayan COX-2 üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığı konusunda bir araştırmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışma ile DMAH'nin normal gebe sıçan uterus dokusunda, COX-2 üzerindeki etki mekanizması araştırılarak gebelik kayıplarının önlenmesindeki rolü hakkında yeni bilgiler elde edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular;

Gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda COX-2 ekspresyonunun gebeliğin başından 7. gününe doğru tedricen arttığını bu nedenle bu enzimin implantasyonda ve desidualizasyonda rol oynayabileceğini, DMAH uygulamasının, immunohistokimyasal seviyede ve semikuantitatif gözlemlerde COX-2 immun

ekspresyonu üzerine bir değişiklik oluşturmadığını göstermektedir.

Teşekkür

Bu araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: 0279-YL-16.

Kaynaklar

Alataş, E., 2004. Tekrarlayan gebelik kayıplarında tanı ve tedavinin yönlendirilmesi. TJD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi 6, 19-25.

Arosh, J.A., Parent, J., Chapdelaine, P., Sirois, J., Fortier, M.A., 2002. Expression of cyclooxygenases-1 and -2 and prostaglandin E synthase in bovine endometrial tissue during the estrous cycle. Biology of Reproduction 67,161-169.

Blitek, A., Waclawik, A., Kaczmarek, M.M., Stadejek, T., Pejsak, Z., Ziecik, A.J. 2006. Expression of cyclooxygenase-1 ve 2 in the porcine endometrium during the oestrous cycle and early pregnancy. Reproduction in Domestic Animals 41, 251-257.

Boerboom, D., Brown, K.A, Vaillancourt, D., Poitras, P., Goff, A.K., Watanabe, K., Dore, M., Sirois, J. 2004. Expression of key prostaglandin synthase in equine endometrium during late diestrus and early pregnancy. Biology of Reproduction 70, 391-399.

Chakraborty, I., Das, S.K., Wang, J., Dey, S.K. 1996. Developmental expression of the cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. Journal of Molecular Endocrinology 16, 107-122.

Charpigny, G., Reinaud, P., Tamby, J.P., Creminon, C., Martal, J., Maclouf, J., Guillomot, M. 1997. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in ovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. Endocrinology 138, 2163-2171.

Cong, J., Diao, H.L., Zhao, Y.C., Ni, H., Yan, Y.Q., Yang, Z.M. 2006. Differential expression and regulation of cyclooxygenases, prostaglandin E synthases and prostacyclin synthase in rat uterus during the peri-implantation period. Reproduction 131,139-151.

Çimen, T. 2011. Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastalarda düşük moleküler ağırlıklı heparin kullanımının gebeliğin seyri ve sonuçları üzerine etkisi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 30.

D'ippolito, S., Ortiz, A.S., Veglia, M., Tersign, İ.C., Di Simone, N. 2011. Low molecular weight heparin obstetric care: a review of the literature, Reproductive Sciences 18, 602-613.

Di Simone, N., Ferrazzani, S., Castellani, R., De Carolis, S., Mancuso, S., Caruso, A. 1997. Heparin and low-dose aspirin restore placental human chorionic gonadotrophin secretion abolished by antiphospholipid antibody-containing sera. Human Reproduction 12, 2061-2065.

Duz, S.A. 2015. Tekrarlayan gebelik kayıpları. Medicine Science., 5, 606-22. DOI: 10.5455/medscience.2015.04.8347.

Güven, E.S., Güven, S., İslamoğlu, G.A., Demir, B., Günalp, S. 2006. Tekrarlayan gebelik kayıplarında güncel algoritma. Hacettepe Tıp Dergisi 37, 117-123.

Hua, F., Li, C.H., Wang, H., Xu, H.G. 2013. Relationship between expression of COX-2, TNF- α , IL-6 and autoimmune-type recurrent miscarriage. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 990-994.

Kennedy T.G., Gillio-Meina, C., Phang, S.H. 2007. Prostaglandins and the initiation of blastocyst implantation and desidualization. Reproduction 134, 635-643.

Kim, J.J., Wang, J., Bambra, C., Das, S.K., Dey, S.K., Fazleabas, A.T. 1999. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the baboon endometrium during the menstrual cycle and pregnancy. Endocrinology 140, 2672-2678.

Kutteh, W.H. 1996. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. American Journal of Obstetrics Gynecology, 174, 1584-9.

Mondal, S. 2009. Early embryonic loss: Genomic insight. Indian Journal of Physiology Allied Sciences, 63, 44-51.

Mor, A., Mondal, S., Reddy, I.J., Soumya, N.P. 2015. Genes regulation maternal recognition of pregnancy in domestic animals: an update. *Brazilian Archives. Biology and Technology* 6, 854-863.

Psychoyos, A. 1986. Uterine receptivity for nidation. Annals of the New York Academy of Sciences 476, 36-42.

Wang, Y., Zhao, A., Lin, Q. 2010. Role of cyclooxygenase-2 signaling pathway dysfunction in unexplained recurrent spontaneous abortion. Chinese Medical Journal, 12, 1543-1547.

Zhang, D., Chang, X., Bai, J., Chen, Z.J., Li, W.P., Zhang, C. 2016. The study of cyclooxygenase 2 in

human decidua of preeclampsia, *Biology of Reproduction* 95, 1-8.

The Relationship Between Some Anemia Parameters and Hepsidin Level in *Anaplasma phagocytophilum* Seropositive Dogs

Anaplasma phagocytophilum Seropozitif Olan Köpeklerde Bazı Anemi Parametreleri ile Hepsidin Düzeyinin İlişkisi

Menekşe DENİZ¹ , Şima ŞAHİNDURAN^{1*} 

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Burdur, Turkey

Abstract: Anaplasmosis in dog is caused by *Anaplasma phagocytophilum*, a gram-negative, mandatory intracellular bacteria. It is transmitted through vector tick. Clinically, the acute bacterial phase is the most common in dogs. Animals with clinical disease due to acute infection often have vague symptoms of the disease, including fever, drowsiness, weakness, loss of appetite, and muscle pain. Hepsidin, on the other hand, is a peptide hormone and also plays a role as a type II acute phase reactant and regulator of iron metabolism. The aim of the study was to evaluate the relationship between hepsidin and some anemia parameters in *Anaplasma phagocytophilum* seropositive dogs and to learn about the use of hepsidin as a biomarker. In the study, a total of 30 dogs, 20 of which were positive for *Anaplasma phagocytophilum*, and 10 healthy dogs in the control group were used. In both groups, complete blood counts were performed. Hepsidin, iron, ALT, AST and ALP values were also measured in serum samples collected. When the parameters of the control and study groups were evaluated, the difference between iron, hepsidin, ALT, AST, ALP values were found statistically significant ($p < 0.05$). As a result, hepsidin values between the two groups were statistically significant ($p < 0.05$) and it was concluded that hepsidin could be used as a biomarker in the diagnosis of anaplasma infection in dogs with other parameters.

Keywords: Hepsidin, Anaplasma, Anemia.

Öz: Köpek anaplazmozisi, gram negatif, zorunlu hücre içi bir bakteri olan *Anaplasma phagocytophilum*' dan kaynaklanmaktadır. Bu bakteri vektör kene aracılığı ile bulaşma sağlanmaktadır. Akut enfeksiyona bağlı klinik hastalığı olan hayvanlarda genellikle ateş, uyuşukluk, halsizlik, istahsızlık ve kas ağrıları da dahil olmak üzere hastalığın belirsiz belirtileri görülmektedir. Hepsidin ise, peptid yapıda bir hormone olup aynı zamanda tip II akut faz reaktanı ve demir metabolizmasında düzenleyici olarak rol almaktadır. Araştırmanın amacı *Anaplasma phagocytophilum* seropozitif köpeklerde bazı anemi parametreleri ile hepsidin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek ve hepsidin biyomarker olarak kullanımı hakkında bilgi edinmektir. Çalışmada *Anaplasma phagocytophilum* yönünden pozitif olan 20 adet, kontrol grubunda da sağlıklı 10 adet olmak üzere toplam 30 adet köpek kullanılmıştır. Her iki gruptaki köpeklerden alınan kanlarda tam kan sayımı yapılmıştır. Ayrıca hepsidin, demir, ALT, AST ve ALP değerleri toplanan serum örneklerinde ölçülmüştür. Kontrol ve çalışma gruplarının parametreleri değerlendirildiğinde demir, hepsidin, ALT, AST, ALP değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Sonuç olarak iki grup arasında hepsidin değerleri istatistiksel açıdan önemli ($p < 0.05$) bulunarak, köpeklerde anaplasma enfeksiyonu teşhisinde hepsidin diğer parametreler eşliğinde biyomarker olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hepsidin, Anaplasma, Anemi.

*Corresponding author : Şima ŞAHİNDURAN
Geliş tarihi / Received: 29.09.2020

e-mail : sahinduran@mehmetakif.edu.tr
Kabul tarihi / Accepted: 16.11.2020

Introduction

Members of the Anaplasmataceae family are gram-negative compulsory intracellular pleomorphic cocci and are proliferated in membrane-bound vacuoles (morula) in the cytoplasm of the hematopoietic specific host cell or invertebrates

(Lai et al., 2009). Although these bacteria are not contagious, they are transmitted by vector ticks or trematodes (Rikihisa, 2006). *I. ricinus* tick species are responsible for the contamination in Turkey (Lee et al., 2003). The disease-causing species in dogs are *A. phagocytophilum* and *A. platys*, and *A. phagocytophilum* is the etiological agent of dog

granulocytic anaplasmosis (CGA) that previously known as granulocytic ehrlichiosis (Tunç and Aktaş, 2016; Cockwill et al., 2009). Although the most common clinical findings of *A. phagocytophilum* are not specific; it is drowsiness, anorexia and fever. Other findings are pale mucosa, gastrointestinal symptoms (vomiting, diarrhea), slightly enlarged lymph nodes, tachypnea and surface bleeding (petechia, melena or nosebleeds). Rarely, collapse, mild cough, uveitis, limb edema and polydipsia / polyuria have been reported (Eberts et al., 2011; Sainz et al., 2015). *A. phagocytophilum* infection may trigger some immunopathies such as immune-mediated thrombocytopenia / anemia (Kohn et al., 2008). Iron metabolism is significantly linked to host defense responses. In response to inflammatory stimuli, macrophages reduce iron absorption and affect growth rates to protect against pathogens. Cytokines such as TNF- α (tumor necrosis factor alpha), IL-1 (interleukin-1), IL-6 (interleukin-6), iron intake network, iron storage (H- and L-ferritin) and effect in iron regulatory system (Falzacappa and Muckenthaler, 2005; Ganz, 2006).

In the acute phase of the inflammation, proteins that show significant changes in blood levels are called acute phase protein (APP). Acute phase proteins are used to assess the response of the body's immune system to inflammation or trauma (Muratta et al. 2004; Petersen et al. 2004). Their secretion is regulated by the proinflammatory cytokines, in particular interleukin 6 (IL-6) (Muratta et al. 2004).

Hepcidin is a hormone that has multiple functions and a peptide structure (Krause et al. 2000). Hepcidin has been studied in human and many animal species (mice, rats, pigs, fish, dogs) to date. In a study on healthy canine tissues, hepcidin was found to be secreted mostly in the liver and less in the lungs and kidneys but not in other tissues (Fry et al., 2004). Hepatic hepcidin production is under the influence of many stimulants such as low levels of iron and erythropoietic activation. Also some cytokines, especially IL-6, increase the level of hepcidin (Kemna et al., 2005). Hepcidin also assists host defense due to its direct antimicrobial properties (Falzacappa and Muckenthaler, 2005;

Wessling-Resnick, 2010). Inflammation states stimulate hepcidin production and increase its release, leading to a decrease in iron secretion from macrophages and a decrease in plasma iron levels (Coyne DW, 2011; Nemeth et al., 2003). In addition, the iron balance in the body is balanced by hepcidin. In iron deficiency, hepcidin level increases and there is a negative correlation between iron deficiency and hepcidin (Coyne, 2011).

The aim of this study was to investigate the relationship between anemia and iron level in blood with hepcidin level in infected dogs with *A. phagocytophilum*.

Material and Methods

This research was carried out on the basis of the permission of Mehmet Akif Ersoy University Local Animal Ethics Committee dated 10.10.2018 and numbered 447.

The research material consisted of dogs brought to the Vetopya Veterinary Clinic in Antalya Döşemealtı District for vaccination, examination, treatment and control. The owners of the animals in the study were informed about the applications. Blood samples were collected by considering clinical symptoms and criteria such as weakness, anorexia, weight loss and weakness, Polydipsia / Polyuria and anemia in animals to form the study group.

Antibody immunochromatographic assay CaniV-4 (Dirofloria immitis antigen, Ehrlichia canis antibody test, Borrelia burgdorferi antibody test and Anaplasma phagocytophilum antibody detection) Kit (BioNote, Inc. Republic of Turkey) were used to identify anaplasma phagocytophilum seropositive dogs. Only dogs with *A. phagocytophilum* seropositive were included in the study. According to the above-mentioned criteria, only anaplasma-positive 20 blood samples were collected. These samples were gathered out of different breed dogs with 6 females and 14 males (aged 7 months – 8 years). Animals in control group consist of 4 females and 6 males healthy dogs.

Complete blood counts of the dogs were performed in both groups (Diatron Abacus Junior Vet Hematology Analyzer, S / N 130702 model). The blood samples were coagulated, and their sera were separated in the cooled centrifuge at 4000 rpm for 5 min. The resulting serum samples were transferred to Eppendorf tubes (1.5 ml) evenly using micropipette. The tubes were recorded with their sample numbers, and stored at -20°C until used.

In addition, Fe, ALP, AST and ALT values were measured in serum samples collected. In the results obtained, Fe, ALP, AST and ALT values of the animals in the study and control groups were compared. Biochemical analysis was done with Gesan Chem 200-1102422 (Italy) autoanalyser device.

Hepcidin values in blood serum were measured by ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

method. Dog specific hepcidin ELISA kits (YL-Biont, Shanghai yl Biotech Co., Ltd. (China) were used in the study. In order to increase the reliability of the study, serum samples were run in duplicate. Microsoft Office® Excel program was used in calculations after ELISA measurement. The data obtained at the end of the process were calculated by the calculation method in the kit and slope graphics were created and samples were calculated in accordance with this slope.

Statistical Analysis

The findings were evaluated using the IBM SPSS 22.0 for Windows package program. The Shapiro-Wilk test was used when the data was applied to the normal distribution. Due to the normal distribution of data, binary group comparisons were determined by the Mann Whitney U test. p <0.05 value limit was accepted.

Table 1. Mean values of some hematological parameters of cats in study and control groups.

Parametre	Study group (n=20)	Control group (n=10)	P
	$\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	$\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	
WBC (10 ⁹ /L)	34.48±30.07 ^a 25.22 (9.60-117.50)	11.24±2.43 ^b 10.71 (8.40-17.30)	0.000
LYMPH# (10 ⁹ /L)	14.42±30.07 ^a 25.22 (9.60-117.50)	2.40±1.62 ^b 2.07 (0.00-6.10)	0.000
MON# (10 ⁹ /L)	1.56±1.56 ^a 1.00 (0.12-6.20)	0.28±0.18 ^b 0.30 (0.00-0.70)	0.000
GRAN# (10 ⁹ /L)	18.23±15.50 ^a 16.45 (0.00-66.40)	9.73±3.98 ^a 10.57 (0.00-14.90)	0.061
RBC (10 ⁹ /L)	4.52±1.50 ^a 4.24 (2.36-8.33)	6.27±2.39 ^b 6.96 (00.00-8.51)	0.003
HGB (g/dL)	5.66±4.20 ^a 4.75 (0.00-11.70)	5.91±7.66 ^a 0.00 (0.00-15.67)	0.645
HCT (%)	8.62±12,25 ^b 0.00 (0.00-30.02)	18.49±23,99 ^b 0.00 (0.00-50.87)	0.422
PLT (10 ⁹ /L)	285.00±122,00 ^a 264.00 (90.00-657.00)	451.00±127.41 ^a 468.50 (275.00-689.00)	0.001

WBC: Leukocyte, LYM: Lymphocyte, MON: Monocytes, NEU: Neutrophil, RBC: Erythrocyte, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematocrit, MCV: Mean cell volume, PLT: Platelets.

There is a statistical difference between columns containing different letters (p <0.05).

Results

The blood samples taken from the dogs in both groups were analyzed in the blood counting device

without delay and hematology results were obtained.

While there were no differences in the granulocyte, hemoglobin and hematocrit between the two groups ($p > 0.05$), differences between leukocyte ($p < 0.05$), lymphocyte ($p < 0.05$), monocyte ($p < 0.05$), erythrocyte ($p < 0.05$) and platelet

($p < 0.05$) values were significant between two groups (Table 1).

When the parameters of the control and study groups were evaluated, the difference between iron ($p < 0.05$), hepcidin ($p < 0.05$), ALT ($p < 0.05$), AST ($p < 0.05$), ALP ($p < 0.05$) values were found statistically significant. Iron, hepcidin, ALT, AST and ALP values are shown in Table 2.

Table 2. Mean values of iron, hepcidin, ALT, AST, ALP values between study and control groups.

Parametre	Study group (n=20)	Control group (n=10)	p
	$\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	$\bar{x} \pm ss$ m(min-max)	
Fe (µg/dL)	72.50±17.02 ^a 74.50 (52.00-101.00)	145.70±56.51 ^b 130.00 (85.00-251.00)	0.000
ALT (U/L)	157.00±62.91 ^a 176.00 (31.00-281.00)	55.64±13.23 ^b 54.10 (38.00-79.10)	0.000
AST (U/L)	171.10±98.43 ^a 131.00 (46.50-395.20)	37.01±14.09 ^b 32.60 (24.60-65.00)	0.000
ALP (U/L)	423.23±243.92 ^a 350.00 (71.00-1015.00)	153.80±52.02 ^b 123.00 (112.00-270.00)	0.000
Hepcidin (ng/ml)	36.16±12.99 ^a 35.41 (10.28-62.14)	11.83±3.09 ^b 11.34 (7.84-16.71)	0.000

There is a statistical difference between columns containing different letters ($p < 0.05$).

Discussion

Dog granulocyte anaplasmosis disease (CGA) is a vector-borne infectious disease that occurs by *Anaplasma phagocytophilum*, which is a mandatory intracellular bacteria found in the Anaplasmataceae family (Chirek et al., 2018).

Although clinical findings are not specific, lethargy, anorexia, pale mucosa, vomiting, polyuria, polydipsia can be seen (Eberts et al., 2011). All dogs in the study group had a history of weight loss, fever, anorexia, polyuria, polydipsia.

The detection of the disease is done by direct blood spreading method, and morulae in neutrophils are observed in up to 60% of clinical cases (Kohn et al., 2008). However, morulae can also be seen in *Ehrlichia ewingii*, which infect neutrophils, so other diagnostic methods must be used. Since 2006, ELISA SNAP 4Dx test kit has been used in practice and detects Ig M and Ig G

antibodies against *A. phagocytophilum* (Shaw et al., 2001).

In one study, fever, high respiratory rate, vomiting, and diarrhea were observed among the first clinical findings in *Anaplasma phagocytophilum* seropositive dogs. Hematological evaluation revealed thrombocytopenia, leukopenia, lymphopenia and neutropenia. In biochemical analysis, high serum ALT, AST values were obtained (Granick et al., 2009). In another study, severe thrombocytopenia and lymphopenia were observed in hematological evaluation, hemoglobin and hematocrit values were within the normal reference range. In biochemical analysis, ALT and AST values were obtained in the range of normal values with high serum ALP value (Melter et al., 2007). In our study, apart from similar findings, high ALP, AST and ALT values were obtained in serum biochemistry analysis and were found statistically significant ($p < 0.05$). Also, unlike this

study, thrombocytopenia is mild and decreases within normal values. Although the mechanism of thrombocytopenia is not fully known, it is thought to be related to the increase in platelet activation and consumption due to the inflammation formed in endothelial cells (Bexfield et al., 2005). In another study, severe thrombocytopenia, leukocytosis and anemia were observed, and it was reported that leukopenia is a less common finding. In serum biochemical analysis results, ALT and ALP values were reported to be high (Jensen et al., 2007). The findings in this study are similar to the findings in our study. As a result of serum biochemical analysis, an increase in ALP, ALT, AST values was observed ($p < 0.05$). The mechanism of increases in liver transaminases is unknown. It is thought that the increase in transaminase values may be associated with the suppression of the immune system formed due to *A. phagocytophilum* infection and septicemia caused by secondary infections (Melter et al.; 2007). In addition, as a result of anemia, which is a symptom of the disease, damage to liver, kidney and muscle tissue cells occurs due to hypoxia and it has been reported that it may cause an increase in enzyme values (Costa et al., 2012).

Plier et al. (2009) found intermittent cough with fever, weakness, anorexia, bronchovesicular sounds in thoracic auscultation. It has been reported that severe thrombocytopenia, normocytic normochromic anemia and leukocytosis are seen in blood parameters. Moderately increased ALP has been reported in serum biochemistry analysis. Although cough has been identified in both naturally and experimentally infected dogs with *Anaplasma phagocytophilum*, pneumonia was documented for the first time in this study. The absence of any organism causing pneumonia in the samples taken from the lung, but the detection of the morulae in the neutrophils obtained from the lungs suggests that pneumonia is caused by *A. phagocytophilum*.

Hepcidin is a peptide hormone. Because of its antibacterial and antifungal properties, hepcidin was originally identified as an antimicrobial peptide produced in the liver (Krause et al., 2000; Park et al., 2001). However, studies have reported

that it is a type II acute phase reactant and plays a role in iron metabolism (Frazer et al., 2002; Nicolas et al., 2002). Hepsidin is responsible for the recycling of iron and the regulation of iron balance. Excessive iron excess stimulates the production of hepcidin and the increase of the hormone decreases the iron concentration, thus preventing excess iron loading. Otherwise, hepcidin is suppressed in iron deficiency. This ensures dietary iron absorption and regeneration of iron stores (Zhang et al., 2009).

Cai et al. (2016) showed that in babies with iron deficiency anemia, hepcidin level increased after treatment. Park et al. (2006) reported an increase in hepcidin levels as a result of erythropoietic activity suppression after treatment with chemotherapy in anemic mice. Park et al. (2001) reported in another study that there was a significant increase in hepcidin levels after iron replacement in anemic mice. While the production of hepcidin is stimulated by the presence of iron and inflammation, it is inhibited in cases of erythropoiesis due to anemia and hypoxia (Falzacappa and Muckenthaler, 2005; Ganz, 2006).

Kali et al. (2015) reported that hepcidin was triggered by IL-6 during inflammation and could be used as an important marker in sepsis and inflammatory reactions. Nemeth et al. (2003) reported that in patients with infection and inflammatory disease, iron overload by transfusion increased the excretion of hepcidin in the urine, and the mRNA of hepcidin was significantly induced by in vitro IL-6. Huang et al. (2017) have been shown to increase the release of hepcidin in the liver tissue of mice whose endotoxemia model was created by injecting lipopolysaccharide. In a study, Şahinduran et al. (2016) reported for the first time that hepcidin value showed a statistically significant difference ($p < 0.001$) in dogs with parvoviral infection compared to healthy ones.

In this study, for the first time, the relationship between some parameters of anemia and hepcidin was investigated in *A. phagocytophilum* seropositive dogs. As a result of the study, iron value was found as 145.70 ± 56.51 ($\mu\text{g} / \text{dL}$) in healthy dogs, and in seropositive dogs with

A. phagocytophilum was found as 72.50 ± 17.02 ($\mu\text{g} / \text{dL}$) ($p < 0.05$). Hepsidin values were found as 11.83 ± 3.09 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) in healthy dogs, and in seropositive dogs with *A. phagocytophilum* was found as 36.16 ± 12.99 ($\mu\text{g} / \text{ml}$). In the statistical evaluation between the two groups, the difference between them was found significant ($p < 0.05$). During inflammation caused by *Anaplasma phagocytophilum* infection, various cytokines, especially IL-6, increase the production of hepcidin (Kemna et al., 2005; Wessling-Resnick, 2010). Increased hepcidin levels; It decreases the release of iron from hepatocyte cells and iron absorption by macrophage, leading to decreases in serum iron levels (Orro et al., 2008). Decreases in serum iron levels are thought to cause a decrease in erythropoiesis and cause non-regenerative anemia. In addition, serum Fe levels may have decreased due to the removal of free iron from the circulation by the monocyte / macrophage-specific hemoglobin scavenging receptor mechanism, which binds haptoglobin-hemoglobin (Hp-Hb) complexes rapidly formed in the circulation after hemolysis of red blood cells and facilitates their uptake (Weinstein et al., 2002; Weaver et al., 2006). According to our results, it has been determined that in anemic dogs infected with *A. phagocytophilum*, hepcidin can be used as an effective biomarker in combination with other parameters and may help in diagnosis.

Acknowledgements

This study was supported by Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Commission (Project No: 0572-YL-19).

References

- Bexfield, N.H., Villiers, E.J., Herrtage, M.E., 2005.** Immune-mediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with *Anaplasma phagocytophilum* in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 46, 543-548.
- Cai, H.J., Wang, N.L., Liu, K.K., Chu, J.H., Wang, Y., Yang, L.H., Wu, Z.Y., 2016.** Clinical Significance of Hepsidin in the Diagnosis of Infant Iron Deficiency Anemia. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi* 24, 546-550.
- Chirek, A., Silaghi, C., Pfister, K., Kohn, B., 2018.** Granulocytic anaplasmosis in 63 dogs: clinical signs, laboratory results, therapy and course of disease. *Journal of Small Animal Practice* 59, 112-120.
- Cockwill, K.R., Taylor, S.M., Snead, E.C., Dickinson, R., Cosford, K., Malek, S., Lindsay, L.R., Diniz, P.P., 2009.** Granulocytic anaplasmosis in three dogs from Saskatoon, Saskatchewan. *Canadian Veterinary Journal* 50, 835-840.
- Costa, M.M., França, R.T., Da Silva, A.S., Paim, C.B., Paim, F., Amaral, C.H.D., Dornelles, G.L., Cunha, J., Soares, J.F., Labruna, M.B., Mazzanti, C.M.A., Silvia, G., Monteiro, G.G., Lopes, S., 2012.** *Rangelia vitalii*: changes in the enzymes ALT, CK and AST during the acute phase of experimental infection in dogs. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria* 21, 243-248.
- Coyne, D.W., 2011.** Hepsidin: clinical utility as a diagnostic tool and therapeutic target. *Kidney International* 80 (3), 240-244.
- Eberts, M.D., Vissotto de, P., Diniz, P.P., Beall, M.J., Stillman, B.A., Chandrashekar, R., Breitschwerdt, E.B., 2011.** Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* 47, 86-94.
- Falzacappa, M.V.V., Muckenthaler, M.U., 2005.** Hepsidin: iron-hormone and anti-microbial peptide. *Gene* 364, 37-44.
- Frazer, D.M., Wilkins, S.J., Becker, E.M., Vulpe, C.D., Mckie, A.T., Trinder, D., Anderson, G.J., 2002.** Hepsidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology* 123, 835-844.
- Fry, M.M., Liggett, J.L., Baek, S.J., 2004.** Molecular cloning and expression of canine hepcidin. *Veterinary Clinical Pathology* 33, 223-227.
- Ganz, T., 2006.** *Hepsidin—a peptide hormone at the interface of innate immunity and iron metabolism*. In *Antimicrobial Peptides and Human Disease*, Berlin: Heidelberg Springer, pp: 183-198.
- Granick, J.L., Armstrong, P.J., Bender, J.B., 2009.** *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs: 34 cases (2000–2007). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1559-1565.
- Huang, P., Wang, J., Lin, X., Yang, F.F., Tan, J.H., 2017.** Effects of IL-10 on iron metabolism in LPS-induced inflammatory mice via modulating hepcidin expression. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 21, 3469-3475.

- Jensen, J., Simon, D., Escobar, H.M., Soller, J.T., Bullerdiek, J., Beelitz, P., Nolte, I., 2007. Anaplasma phagocytophilum in dogs in Germany. *Zoonoses Public Health* 54, 94-101.
- Kali, A., Charles, M.V.P., Seetharam, R.S.K., 2015. Hepsidin-A novel biomarker with changing trends. *Pharmacognosy Reviews* 9, 35.
- Kemna, E., Pickkers, P., Nemeth, E., van, d., Hoeven, H., Swinkels, D., 2005. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 106, 1864-1866.
- Kohn, B., Galke, D., Beelitz, P., Pfister, K., 2008. Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22, 1289-1295.
- Krause, A., Neitz, S., Mägert, H.J., Schulz, A., Forssmann, W.G., Schulz-Knappe, P., Adermann, K., 2000. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters* 480, 147-150.
- Lai, T.H., Kumagai, Y., Hyodo, M., Hayakawa, Y., Rikihisa, Y., 2009. The Anaplasma phagocytophilum PleC histidine kinase and PleD diguanylate cyclase two-component system and role of cyclic Di-GMP in host cell infection. *Journal of Bacteriology* 191, 693-700.
- Lee, S.H., Lee, J.H., Jang, W.J., Koh, S.E., Yang, Y.M., Kim, B.J., Kook, Y.H., Park, K.H., 2003. Differentiation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato through groEL gene analysis. *FEMS Microbiology Letters* 222, 51-57.
- Melter, O., Stehlik, I., Kinska, H., Volfova, I., Ticha, V., Hulinska, D., 2007. Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in a young dog: a case report. *Veterinari Medicina* 52, 207-212.
- Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M., 2004. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis. *The Veterinary Journal* 168, 28-40.
- Nemeth, E., Valore, E.V., Territo, M., 2003. Hepsidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 101, 2461-2463.
- Nicolas, G., Viatte, L., Bennoun, M., Beaumont, C., Kahn, A., Vaulont, S., 2002. Hepsidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 29, 327-335.
- Orro, T., Jacobsen, S., LePage, J.P., Niewold, T., Alasuutari, S., Soveri, T., 2008. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *The Veterinary Journal* 176, 182-187.
- Park, C.H., Valore, E.V., Waring, A.J., Ganz, T., 2001. Hepsidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *The Journal of Biological Chemistry* 276, 7806-7810.
- Petersen, H.H., Nielsen, J.P., Heegaard, P.M., 2004. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research* 35, 163-187.
- Plier, M.L., Breitschwerdt, E.B., Hegarty, B.C., Kidd, L.B., 2009. Lack of evidence for perinatal transmission of canine granulocytic anaplasmosis from a bitch to her offspring. *Journal of the American Animal Hospital Association* 45, 232-238.
- Prak, M., Lopez, M.A., Gabayan, V., Ganz, T., Rivera, S., 2006. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 108, 3730-3735.
- Rikihisa, Y., 2006. New findings on members of the family Anaplasmataceae of veterinary importance. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1078, 438-445.
- Sahinduran, S., Albay, M.K., Karakurum, M.C., Ozmen, O., Kale, M., 2016. Investigation of some cytokines, acute phase proteins and hepcidin levels before and after treatment in dogs with parvoviral gastroenteritis. *Pakistan Veterinary Journal* 36, 487-492.
- Sainz, Á., Roura, X., Miró, G., Estrada-Peña, A., Kohn, B., Harrus, S., Solano-Gallego, L., 2015. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites Vectors* 8, 75.
- Shaw, S.E., Day, M.J., Birtles, R.J., Breitschwerdt, E.B., 2001. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends Parasitol* 17, 74-80.
- Tunç, H.Ö., Aktaş, M.S., 2016. Türkiye’de Köpeklere Kene Aracılığıyla Bulaşan Hastalıklar. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 13, 223-230.
- Weaver, L.K., Hintz-Goldstein, K.A., Pioli, P.A., Wardwell, K., Qureshi, N., Vogel, S.N., Guyre, P.M., 2006. “Pivotal Advance: Activation of cell surface Toll-like receptors causes shedding of the hemoglobin scavenger receptor CD163”, *Journal of Leukocyte Biology*, 80, 26-35.
- Weinstein, D.A., Roy, C.N., Fleming, M.D., Loda, M.F., Wolfsdorf, J.I., Andrews, N.C., 2002. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 100, 3776-3781.
- Wessling-Resnick, M., 2010. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annual Review of Nutrition* 30, 105-122.

Zhang, D.L., Hughes, R.M., Ollivierre-Wilson, H., Ghosh, M.C., Rouault, T.A., 2009. A ferroportin transcript that lacks an iron-responsive element enables duodenal and erythroid precursor cells to evade translational repression. *Cell Metabolism* 9, 461-473.

Investigations of Adenosine Deaminase and C-reactive Protein in Cats with Feline Infectious Peritonitis

Felin İnfeksiyöz Peritonitli Kedilerde Adenozin Deaminaz ve C-reaktif Protein Düzeylerinin Araştırılması

Mehmet Akif KAHRAMAN¹ , Halil İbrahim GÖKÇE^{2*} 

¹Ametist Veterinary Clinics, Anatalya, Turkey

²Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Burdur, Turkey

Abstract: The aims of the present study were to evaluate T-cell-mediated immune response and acute phase response in cats with infectious peritonitis (FIP). In the study, 20 cats with FIP and 10 clinically healthy cats were used. Cats with FIP were divided into two groups as dry form (n=10) and wet form (n=10) based on clinical, radiographic and necropsy findings. Adenosine deaminase (ADA-1) and C reactive protein (CRP) levels were determined by using cat-specific ELISA kits. Serum concentrations of total protein (TP) and albumin (A) were measured by photometric methods. In the study, both serum and peritoneal effusion concentrations of ADA-1 (p<0.001) and CRP (p<0.001) were significantly higher in cats with FIP than control cats. A high positive correlation was obtained between serum concentrations of ADA-1 and CRP in cats with FIP (r=0.62, p<0.001). Significant increases in TP (p<0.01) and globulin (p<0.01) levels and decreases in A (p<0.01) values and A/G ratio (p<0.01) were obtained in cats with FIP. Serum TP (p<0.05) and G (p<0.05) levels were significantly higher, whereas ADA-1 activity (p<0.01) was lower in cats with dry form than in cats with wet form of FIP. As a conclusion, both serum and peritoneal effusion samples can be used to determine ADA-1 and CRP, and they can be useful biomarkers for evaluating T-cell-mediated immune responses, inflammation and possibly organ damages in cats with FIP.

Keywords: Adenosine Deaminase-1 (ADA-1), Cat, C-Reactive Protein (CRP), Feline Infectious Peritonitis (FIP).

Öz: Çalışmada felin infeksiyöz peritonitli (FİP) kedilerde T-lenfosit aracılı immun yanıt ve akut faz yanıtın değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 20 FİP'li ve 10 adet klinik olarak sağlıklı kedi kullanıldı. FİP'li kediler klinik, röntgen ve nekropsi bulguları ışığında yaş form (n=10) ve kuru form (n=10) FİP'li olarak iki gruba ayrıldı. Adenozin deaminaz-1 (ADA-1), C-reaktif protein (CRP) düzeyleri kedi spesifik ELISA testleri kullanılarak belirlendi. Serum total protein (TP) ve albümin (A) düzeyleri ise fotometrik metodla saptandı. Çalışmada FİP'li kedilerin hem serum hem de peritoneal efüzyonlarındaki ADA-1 (p<0,001) ve CRP (p<0,001) düzeyleri sağlıklı kedilerin düzeylerine göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi. FİP'li kedilerin serum ADA-1 konsantrasyonu ile CRP konsantrasyonları arasında yüksek düzeyde pozitif korelasyonun olduğu belirlendi (r=0,62, p<0,001). FİP'li kedilerin serum TP (p<0,01) ve globülin (G) (p<0,01) düzeylerinde anlamlı artışlar belirlenirken albümin (p<0,01) düzeyleri ve albümin globülin oranlarında (A/G) ise anlamlı düzeyde düşüşler saptandı. Kuru form FİP'li kedilerin serum TP (p<0,05), ve G (p<0,05) düzeyleri yaş form FİP'li kedilerinki ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek iken ADA-1 p<0,01) aktivitesinin ise anlamlı düzeyde düşük olduğu saptandı. Sonuç olarak, FİP'li kedilerde hem serum hem de peritoneal efüzyonların ADA-1 ve CRP düzeylerinin ölçümünde kullanılabileceği ve bu parametrelerin FİP'li kedilerde T-lenfosit aracılı immun yanıt, yangı ve olası organ hasarlarının değerlendirilmesinde yararlı biyomarkırlar olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adenozin Deaminaz-1 (ADA-1), C-Reaktif Protein (CRP) Felin İnfeksiyöz Peritonitis (FIP), Kedi.

*Corresponding author : Halil İbrahim GÖKÇE
Geliş tarihi / Received: 23.10.2020

e-mail : higokce@mehmetakif.edu.tr
Kabul tarihi / Accepted: 16.11.2020

Introduction

Feline infectious peritonitis (FIP) is a highly fatal viral disease that caused by feline coronavirus

(FCoV) (Addie et al., 2009, Pedersen, 2014). FCoV generally cause either asymptomatic infection or mild diarrhea (Addie et al., 2009; Decaro and Buonaiglia, 2011; Pedersen, 2014).

Some of the healthy and diarrheic cats are become carrier and these cats are potentially at risk for developing FIP (Addie et al., 2009; Kipar et al., 2010; Vogel et al., 2010; Wotrhing et al., 2012). FCoV can be mutata and a mild gastrointestinal disease progresses into clinical FIP, that is progressive and almost always fatal (Sharif et al., 2009; Ehman et al., 2018; Li et al., 2019). FIP develop in two forms as an effusive (wet) and a non-effusive (dry) form. The effusive form is characterized by an accumulation of protein-rich fluid in the abdomen and/or chest. In dry form of FIP, granulomatous or pyogronulomatous lesion develop in various organs and the developing clinic symptoms are related to these organ dysfunctions (Addie et al., 2009; Diaz and Poma, 2009; Sharif et al., 2009; Oguzoglu et al., 2010; Tasker, 2018).

In studies, severe hematologic and biochemical alterations have been reported in cats with FIP. In these studies, total protein (TP) and globulin (G) concentrations were found to be elevated, while albumin (A) concentrations and albumin/globulin ratio were shown to decrease in cats with FIP. None of these findings are specific for FIP and definitive diagnosis of FIP is very difficult. Single positive or negative diagnostic test is meaningless and does not rule out the either presence or absence of FIP in cats. Therefore, a combination of a complete history, clinical examination, laboratory tests, post-mortem examination and histopathology may help its confirmatory diagnosis. Furthermore, clinical signs consistent with FIP and a positive diagnostic test result may indicate the presence of active FIP in cats (Diaz and Poma, 2009; Sharif et al., 2010; Pedersen, 2014; Tasker, 2018).

Adenosine deaminase (ADA), a purine catalytic enzyme, plays a vital role in the maturation of the immunological system and it is essential for proliferation and differentiation of lymphocytes (Martinez-Navio et al., 2011; Antonioli et al., 2012; Sauer et al., 2012; Brigida et al., 2014; Flinn and Gennery, 2018). Elevated ADA activities reflect the activation of cell-mediated immunity, while decreased values are associated with immunodeficiency (Climent et al., 2009;

Poursharifi et al., 2009; Antonioli et al., 2012; Flinn and Gennery, 2018). Adenosine deaminase has been shown to have diagnostic value in several diseases and it is considered to be a marker of T-cell activation and inflammation for both human and animals (Castro et al., 2003; Ellah et al., 2004; Baba et al., 2008; Martinez-Navio et al., 2011; Rodriques et al., 2012; Afrasibian et al., 2013; Akhtardanesh et al., 2013; Brigida et al., 2014). In studies, ADA test has shown to have a high sensitivity and specificity in the diagnosis of pleural tuberculosis and suggested to be a useful diagnostic marker for tuberculosis (Castro et al., 2003; Baba et al., 2008; Afrasibian et al., 2013). Furthermore, a positive correlation was determined between serum ADA activity and the degree of hepatocellular damage. It was suggested to have a diagnostic value for liver disease in cattle (Ellah et al., 2004).

C-reactive protein, a positive acute phase protein (APP), is synthesized primarily in liver hepatocytes and its concentration increases during inflammatory events (Clyne and Olshaker 1999; Gokce and Bozukluhan, 2009; Sproston and Ashworth 2018). It is an acute marker for inflammation and its levels shown to increase in several diseases including pneumonia (Ruiz-Gonzalez et al., 2018), neonatal sepsis (Xu et al., 2016), viral and bacterial infections (Sproston and Ashworth 2018; Chiu et al., 2019), rheumatoid arthritis (Nalesnik et al., 2011; Sridevi et al., 2018) and cardiovascular diseases (Ridger et al., 2002; Osman et al., 2006). CRP is also used to distinguish between patients with bacterial and viral infections, and no infections (Sasaki et al., 2002; Haran et al 2012; Sproston and Ashworth 2018; Chiu et al., 2019). It has been reported that CRP is not just a marker of inflammation, it is also an important regulator of inflammatory processes. It plays a key role in the host's defence against infections (Clyne and Olshaker 1999; Sproston and Ashworth 2018).

Up to date, serum and pleural effusion ADA-1 and CRP levels have not been studied and their diagnostic values have not been established in cats with FIP. Therefore, in the present study, ADA-1, CRP, total protein, albumin and globulin

values were measured to determine T-cell activation, acute phase responses and their diagnostic values in cats with FIP.

Material and Methods

Animals

Twenty FIP-suspected cats and 10 clinically healthy cats in different breeds and ages were used in the study. Cats with respiratory distress, weight loss, depression, loss of appetite, nervous signs, accumulation of effusion either within the abdominal cavity or chest cavity were accepted as suspicious to FIP. Chest or abdominal radiography was also applied to the cats suspicious to FIP. Cat-specific FCoV antigen, FCoV antibody, feline leukoma virus (FLeV) and feline immunodeficiency virus (FIV) rapid test kits were used to detect FCoV infected cats according to the manufacturer instructions (Bionote, Korea). Furthermore, necropsy was performed for each cat either died or euthanized. Twenty cats with positive results for either antigen or antibody tests of FCoV and with supportive clinical, X-ray and necropsy findings of FIP were accepted as FIP and used in the study (Diaz and Poma, 2009; Tasker, 2018). Cats positive to FLeV or FIV were not used in the study. Control cats were negative for all the tests applied. Cats with abdominal effusion (n=10) detected by radiography and necropsy were accepted as wet form, while cats with granulomatous lesions in various organs observed in necropsy were accepted as dry form of FIP.

This study was performed according to the requirements of the ethical committee of the Faculty of Veterinary Medicine, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Turkey (Approval No: 2018/392).

Laboratory Analysis

Serum samples were collected from all the animals and used to analyse CRP, ADA-1, TP, A and G values. Peritoneal effusions were also collected from 10 cats with wet form of FIP and used to determine CRP and ADA-1 levels. Serum concentrations of TP, G, and A were determined

by photometric methods (Abbott Architect Ci8200 Biochemistry Analyser USA). Serum and pleural effusions ADA-1 (SunRed, Shanghai, CHINA) and CRP (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, CHINA) levels were measured by commercially available cat-specific ELISA kits according to the manufacturer's instructions. Serum globulin concentrations were calculated by subtracting albumin values from total protein values.

The optical density (OD) of each well for ADA-1 and CRP was determined with a micro-ELISA plate reader (MR-96A, Minray, China) at a test wave-length of 450 nm. The concentrations of ADA-1 and CRP were calculated regression analysis on the basis of standard curve derived from two-fold dilutions of each standard stock solution. The sensitivities of ADA and CRP were 0.075ng/ml and 0.12mg/mL, respectively.

Statistical analysis

Kolmogorov Smirnov test was used to determine normality of distribution of the data, which were normally distributed. The significance of the differences in values between cats with FIP and control cats were determined by Student's t test. Student's t test also used to compare the differences in values between wet and dry form of FIP. Pearson's correlation coefficient (r) analysis was performed to determine the correlations between the parameters obtained from cats with FIP. All the values were expressed as mean and standard deviations of the mean (mean \pm SD). The level of significance was accepted as $p < 0.05$ for both Student's t test and Pearson's correlation coefficient analysis. SPSS software computer programme (version 14.01 for Windows, SPSS Inc, Chicago) was used to perform all the statistical analyses.

Results

Clinical Findings

Anorexia, weight loss and depression were common clinical findings observed in cats with either wet or dry form of FIP. In addition to these, effusions in abdominal or chest cavity with

breathing difficulties were also observed in cats with wet form of FIP. In dry form, nervous symptoms including weakness, incoordination, *opisthotonus*, paraplegia were dominant clinical symptoms observed. Presence of excessive fluid accumulation in chest and/or abdominal cavity (wet form) and granulomatous lesions (dry form) in various organs such as liver, lungs and intestines were confirmed by chest and/or abdominal radiography and necropsy.

Biochemical Findings

In the study, serum concentrations of TP ($p<0.01$), G ($p<0.05$), ADA-1 ($p<0.001$) and CRP ($p<0.001$) were significantly higher in cats with FIP than those of obtained from control cats. Whereas, serum concentrations of A ($p<0.01$) and A/G ratio ($p<0.01$) were significantly low in cats with FIP compared to that of control cats (Table 1).

Table 1. Biochemical findings of cats with feline infectious peritonitis (FIP) and control cats. (Mean \pm Standard deviation).

Parameters	Control (n=10)	FIP	Min-max	p value
ADA-1 (ng/ml)	2.53 \pm 0.75	4.40 \pm 0.80	2.49-5.12	0.001
CRP mg/L	1.75 \pm 0.36	2.67 \pm 0.44	1.9-3.53	0.001
TP (g/dl)	7.33 \pm 0.73	8.71 \pm 1.48	6.4-14.1	0.003
A (g/dl)	2.70 \pm 1.88	2.34 \pm 0.41	1.1-2.9	0.015
G (g/dl)	4.63 \pm 0.73	5.67 \pm 1.42	3.7-8.6	0.039
A/G	0.59 \pm 0.09	0.43 \pm 0.12	0.23-0.67	0.001

ADA-1: Adenosine deaminase, CRP: C-reactive protein, TP: Total protein, A: Albumin, G: Globulin, A/G: Albumin/Globulin ratio. Significant level was accepted as $p<0.05$.

Table 2. Serum and peritoneal effusion concentrations of adenosine deaminase (ADA-1) and C-reactive protein (CRP) in cats with wet form of feline infectious peritonitis (FIP) and control cats. (Mean \pm Standard deviation).

Parameters	Control Serum (n=10)	FIP Serum (n=10)	FIP Effusion (n=10)
ADA-1 (ng/ml)	2.53 \pm 0.75 ^a	4.75 \pm 0.82 ^b	4.92 \pm 0.70 ^b
CRP mg/L	1.75 \pm 0.36 ^a	2.77 \pm 0.51 ^b	2.64 \pm 0.52 ^b

ADA-1: Adenosine deaminase, CRP: C-reactive protein. Different letters above the columns indicate significant difference between the groups. Significant level was accepted as $p<0.05$.

Furthermore, both ADA-1 ($p<0.001$) and CRP ($p<0.001$) values were also high in effusions as determined in serum samples (Table 2).

There were positive correlations between serum ADA-1 and CRP ($r=0.62$, $p<0.01$), TP ($r=0.40$, $p<0.05$), while negative correlations were obtained between ADA-1 and A ($r=-0.42$, $p<0.05$), A/G ($r=-0.49$, $p<0.05$). Furthermore, positive correlation were also detected between

TP and G ($r=0.62$, $p<0.01$), and between A and A/G ($r=0.68$, $p<0.01$). On the other hand, negative correlations were obtained between TP and A/G ($r=-0.56$, $p<0.01$), and between G and A/G ($r=-0.79$, $p<0.001$) (Table 3). A positive correlation was determined between serum and effusion concentrations of CRP in cats with wet form of FIP ($r=0.52$, $p<0.01$), while a negative correlation was obtained between ADA-1 values of serum and effusion of these cats ($r=-0.43$, $p<0.05$).

Table 3. Correlations (r) between the parameters of serum samples obtained from Cats with FIP.

Parameters	ADA (ng/ml)	CRP (mg/ml)	TP (g/dl)	A (g/dl)	G (g/dl)	A/G
ADA (ng/ml)	1	0.62**	0.40*	-0.42*	0.29	-0.49*
CRP (mg/L)		1	0.26	-0.28	-0.02	-0.14
TP (g/dl)			1	-0.16	0.62**	-0.56*
A (g/dl)				1	-0.16	0.68**
G (g/dl)					1	-0.79***
A/G						1

ADA-1: Adenosine deaminase, CRP: C-reactive protein, TP: Total protein, A: Albumin, G: Globulin, A/G: Albumin/Globulin ratio. Significant levels were indicated by symbols, *:p<0.05, **:p<0.01, ***: p<0.001.

Comparison of the parameters obtained from dry and wet form of FIP showed that serum ADA-1 levels were significantly higher in cats with wet form compared to those of cats with dry form of FIP (p<0.01). Serum concentrations of CRP were also high in cats with wet form of FIP, but there was no statistically significance between wet

form and dry form of FIP (Table 4). In addition to these, serum TP and G values were significantly higher in cats with dry form of FIP than that of values obtained from cats with wet form of FIP (p<0.05, Table 4).

Table 4. Serum biochemical findings of cats with dry form and wet form of feline infectious peritonitis (FIP), and control cats. (Mean ± Standard deviation).

Parameters	Control (n=10)	Dry Form (n=10)	Wet form (n=10)
ADA-1 (ng/ml)	2.53±0.75 ^a	4.04±0.63 ^b	4.75±0.82 ^c
CRP (mg/L)	1.75±0.36 ^a	2.57±0.34 ^b	2.77±0.51 ^b
TP (g/dl)	7.33±0.73 ^a	9.35±1.84 ^b	8.07±1.18 ^a
A (g/dl)	2.70±1.88 ^a	2.47±0.27 ^{ab}	2.21±0.49 ^{bc}
G (g/dl)	4.63±0.73 ^a	6.28±1.04 ^b	5.06±1.52 ^a
A/G	0.59±0.09 ^a	0.40±0.09 ^b	0.46±0.14 ^b

ADA-1: Adenosine deaminase, CRP: C-reactive protein, TP: Total protein, A: Albumin, G: Globulin, A/G: Albumin/globulin. Different letters above the columns indicate significant difference between the groups. The significant level was accepted as p<0.05.

Discussion

Feline infectious peritonitis caused by FCoV is a highly contagious and deadly infection of domesticated and wild cats (Addie et al., 2009; Pedersen, 2014; Tasker, 2018). Most of the cats are seropositive to feline coronavirus (FCoV) and become carriers (Addie et al., 2009; Kipar et al., 2010; Vogel et al., 2010; Wotrhing et al., 2012; Pedersen, 2014; Li et al., 2019). These cats are

highly susceptible to develop FIP due to mutation of FCoV and FIP can be seen in any time of the cat's life (Sharif et al., 2009; Fehr and Perlman, 2015; Ehman et al., 2018; Li et al., 2019). Up to date, differential diagnosis of cats from FCoV to FIPV and their treatments are still insufficient and available vaccines are not able to fully protect cats against FIP (Addie et al., 2009; Pedersen, 2014; Tasker, 2018).

It has been demonstrated that severe hematologic and biochemical alterations occur in cats with FIP (Addie et al., 2009; Pedersen, 2014). Elevated serum concentrations of TP and G, and decrease in A and A/G values have been reported in cats with FIP (Hartmann et al., 2003; Addie et al., 2009; Jeffery et al., 2012; Pedersen, 2014). These alterations have been implicated to have some diagnostic value for differentiating cats from FIP to healthy ones (Hartmann et al., 2003; Addie et al., 2009; Diaz and Poma, 2009; Sharif et al., 2010; Jeffery et al., 2012; Pedersen, 2014; Tasker, 2018). In the present study, elevated serum concentrations of TP ($p < 0.01$) and G ($p < 0.05$) and decreased in concentration ($p < 0.01$) and A/G ratio ($p < 0.01$) were determined in cats with FIP as reported elsewhere (Hartmann et al., 2003; Addie et al., 2009; Sharif et al., 2010; Jeffery et al., 2012; Pedersen, 2014). It is known that globulin synthesis increases in chronic disease, while albumin values decrease in association with liver and renal insufficiency (Kaneko, 1997). It was reported that hypoalbuminemia obtained in cats with FIP occurred due to renal insufficiency and accumulation of protein-rich effusions in cavities (Addie et al., 2009). Its synthesis may also be decreased in response to acute phase responses as it is a negative APP (Clyne and Olshaker, 1999; Gokce and Bozukluhan, 2009; Sproston and Ashworth 2018). Total protein concentrations implicated to increase due to increased globulin synthesis, resulting decrease in A/G ratio in cats with FIP (Hartmann et al., 2003; Addie et al., 2009; Sharif et al., 2010; Jeffery et al., 2012; Pedersen, 2014). In the present study, A/G ratio were found to be significantly low in cats with FIP. The decrease in A/G ratio is most probably occur due to elevated globulin and decreased in albumin concentrations. Furthermore, high positive correlations were obtained between TP and G ($r = 0.62$, $p < 0.01$), and also between A and A/G ($r = 0.68$, $p < 0.01$). On the other hand, high negative correlation was detected between G and A/G ($r = -0.79$, $p < 0.001$). These correlations indicate that A, G and A/G ratio may have diagnostic value in cat with FIP as mentioned elsewhere (Hartmann et al., 2003; Addie et al.,

2009; Sharif et al., 2010; Jeffery et al., 2012; Pedersen, 2014). In addition to these, in the present study, the differences in biochemical values were also compared between wet and dry form of FIP. It was found that serum TP and G values were significantly higher in cats with dry form of FIP than that of wet form of FIP. Albumin values were similarly low but not significantly different in both groups. These findings indicate that liver function may not be affected to produce globulin but it may be insufficient to produce albumin in both groups of cats. As reported before, accumulation of protein-rich effusions may not be the cause of low albumin concentrations obtained in cats with FIP (Addie et al., 2009), because, in the present study, low albumin values were obtained in both dry and wet form of FIP. Therefore, in combination of renal and hepatic dysfunction, and also some other unknown factors may play a role in reduced albumin concentrations obtained in both dry and wet form of FIP.

C-reactive protein, a positive APP, is synthesized primarily in liver hepatocytes and its concentrations increases during the inflammatory events (Clyne and Olshaker 1999; Gokce and Bozukluhan, 2009; Sproston and Ashworth 2018). It has been used to diagnose inflammation and also differentiate bacterial infections from viral infections (Clyne and Olshaker 1999; Haran et al 2012, Xu et al., 2016; Ruiz-Gonzalez et al., 2018; Sproston and Ashworth 2018; Chiu et al., 2019). In previous studies, elevated serum and abdominal effusions haptoglobin (Hb) α_1 -acid glycoprotein (α_1 -AGP) and serum amyloid A (SAA) were reported in cats with FIP (Duthie et al., 1997; Giordano et al., 2004; Hazuchova et al., 2017). Effusion AGP levels were implicated to be useful in differentiating between FIP and other diseases (Hazuvhova et al., 2017). In the present study, both serum and effusion concentrations of CRP were found to be high in cats with FIP ($p < 0.001$). A positive correlation was detected between serum and effusion concentrations of CRP in wet form of FIP ($r = 0.52$, $p < 0.01$). In addition to low albumin values, elevated CRP may indicate development of acute phase

responses in cats with FIP, therefore elevated serum and effusion CRP values may have diagnostic and prognostic values in cats with both dry and wet form of FIP. However, CRP levels may not be insufficient to differentiate dry form from wet form of FIP. Because of significant high CRP levels were detected in both groups and there were no significant differences in CRP levels between these groups.

Adenosine deaminase (ADA-1) plays a vital role in the maturation of the immunological system and it is essential for proliferation and differentiation of lymphocytes (Brigida et al., 2014; Martinez-Navio et al., 2011; Antonioli et al., 2012; Sauer et al., 2012; Flinn and Gennery, 2018). It is considered to be a marker of T-cell activation and inflammation in both human and animals (Castro et al., 2003; Ellah et al., 2004; Baba et al., 2008; Martinez-Navio et al., 2011; Rodrigues et al., 2012; Afrasibian et al., 2013; Akhtardanesh et al., 2013; Brigida et al., 2014). Furthermore, ADA was reported to have anti-inflammatory effects on normal levels but it was shown to cause tissue and organ damages in high levels (Baba et al., 2008; Niraula et al., 2018). A correlation between increase in serum ADA levels and severity of inflammation was reported and the increase was suggested to be related with presence of activated T-lymphocytes and monocytes, and organ damages (Baba et al., 2008; Niraula et al., 2018). Elevated ADA-1 activity was also reported in cattle with liver diseases and a positive correlation was determined between serum ADA-1 activity and the degree of hepatocellular damage (Ellah et al., 2004). Furthermore, ADA test has been shown to have a high sensitivity and specificity in the diagnosis of pleural tuberculosis in human and thus, its activity has been suggested to be a useful diagnostic marker for tuberculosis (Castro et al., 2003; Baba et al., 2008; Afrasibian et al., 2013). Concentrations of serum and pleural effusion of CRP and ADA were found to be high and a positive correlation was detected between their serum and pleural effusion increases in patients with tuberculosis. In this study, ADA was suggested to be a useful biomarker to

differentiate malignant tuberculosis from nonspecific pyothorax (Kim et al., 1988). Elevated serum CRP and ADA levels were also determined in patients with rheumatoid arthritis and they were implicated to be useful biomarkers for diagnosing inflammation and following the treatment (Nalesnik et al., 2011; Sridevi et al., 2018). Therefore, ADA-1 has been suggested to be a useful biomarker for evaluating T-cell-mediated immune responses, diagnosing inflammation and organ damages (Ellah et al., 2004; Climent et al., 2009; Baba et al., 2008; Kapisyzi et al., 2009; Afrasiabian et al., 2013; Nagayasu et al., 2018; Niraula et al., 2018).

In the present study, for the first time, elevated serum ADA-1 activities were obtained in cats with both dry and wet form of FIP compared to control cats ($p < 0.001$). High concentrations of ADA-1 activity was also determined in the peritoneal effusions of cats with wet form of FIP ($p < 0.001$). These results may confirm T-cell activation and also reflect organ damages in both dry and wet form of FIP. Furthermore, serum ADA-1 activity was higher in wet form than that of dry form of FIP ($p < 0.01$). Serum ADA-1 levels may be used to differentiate wet form from dry form of FIP, but it needs to be further investigated with a high number of cats with wet and dry form of FIP. In the study, both serum CRP and ADA-1 concentrations were elevated and a high positive correlation was detected between these parameters in cats with FIP ($r = 0.62$, $p < 0.01$). It is suggestive that both serum and the effusions can be used to analyse ADA-1 and CRP values and these two parameters can be useful to determine T-cell activation, inflammation and also organ damages in cats with FIP.

In conclusion, serum concentrations of TP, G, ADA-1 and CRP were high in cats with both wet and dry form of FIP, while serum concentrations of A and A/G ratio were significantly low in both groups. ADA-1 and CRP values were also high in the peritoneal effusions of cats with wet form of FIP. High serum concentrations of TP and G, and low ADA-1 activity were obtained in cats with dry form compared to wet form of FIP. It

is suggestive that T-cell activation, acute phase response and possibly organ damages develop in cats with FIP. The results of the present study, indicate that both serum and effusion values of ADA-1 and CRP can be useful biomarkers to determine T-cell activity, inflammation and organ damages in both dry and wet form of FIP.

References

- Addie, D., Belak, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M.J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M.G., Radford, A.D., Thiry, E., Truyen, U., Horzinek, M.C., 2009. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 594-604.
- Afrasiaban, S., Mohsenpour, B., Bagheri, K.H., Sigari, N., Aftabi, K., 2013. Diagnostic value of serum adenosine deaminase level in pulmonary tuberculosis. *Journal of Research in Medical Sciences*, 18, 252-254.
- Akhtardanesh, B., Ghalekhani, N., Abshenas, J., Nematollahi, H., Sharifi, H., 2013. Serum adenosine deaminase as a diagnostic marker of chronic infectious disease in dogs. *Journal of Veterinary Research*, 17, 592-595.
- Antonioli L., Colucci, R., La Motta, C., Tuccori, M., Awwad, O., Da Settimo, F., Blandizzi, C., Fornai, M., 2012. Adenosine deaminase in the modulation of immune system and its potential as a novel target for treatment of inflammatory disorders. *Journal of Inflammation*, 13, 842-862.
- Baba, K., Hoosen, A.A., Langeland, N., Dyrholm-Riise, A.M., 2008. Adenosine Deaminase Activity Is a Sensitive Marker for the Diagnosis of Tuberculous Pleuritis in Patients with Very Low CD4 Counts. *PLOS One*, 3, 1-5.
- Brigida, I., Sauer, A., Ferrua, F., Giannelli, S., Scaramuzza, S., Pistoia, V., Casiello, M.C., Barendregt, B., Cicalese, M.P., Casiraghi, M., Brombin, C., Puck, J., Muller, K., Notarangelo, L.D., Montin, D., Van Montfrans, J.M., Roncarolo, M.G., Traggiai, E., Van Dongen, J.J.M., Ven Der Brug, M., Aiuti, A., 2014. B-cell development and functions and therapeutic options in adenosine deaminase-deficient patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133, 799-806.
- Castro, J., Nuevo, G.D., Perez-Rodriguez, E., Light, R.W., 2003. Diagnostic value of adenosine deaminase in nontuberculous lymphocytic pleural effusions. *European Respiratory Society*, 21, 220-224.
- Chiu, I.M., Huang, L.C., Chen, I.L., Tang, K.S., Huang, Y.H., 2019. Diagnostic values of C-reactive protein and complete blood cell to identify invasive bacterial infection in young febrile infants. *Pediatrics and Neonatology*, 60, 197-200.
- Climent, N., Martinez-Navio, J.M., Gil, C., Garcia, F., Rovira, C., Hurtado, C., Miralles, L., Gatell, J.M., Gallart, T., Mallol, J., Lluís, C., Franco, R. 2009. Adenosine deaminase enhances T-cell response elicited by dendritic cells loaded with inactivated HIV. *Immunology and Cell Biology*, 87, 634-9.
- Clyne, B., Olshaker, J.S., 1999. The C-reactive protein. *Journal of Emerging Medicine*, 17, 1019-1025.
- De Sosa Rodrigues, L.F., Olivera, M.E.F., Teixeira, P.P.M., Cavalcante, I.J.M., Vale, M.R., 2012. Adenosine deaminase activity as a biochemical marker of inflammatory response in goats infected by caprine arthritis-encephalitis virus. *Small Ruminant Research*, 108, 120-126.
- Decaron, N., Buonavoglia, C., 2011. Canine coronavirus: not only an enteric pathogen. *Vet Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice*, 41, 1121-1132.
- Diaz, J.V., Poma, R., 2009. Diagnosis and clinical signs of feline infectious peritonitis in the central nervous system. *Canadian Veterinary Journal*, 50, 1091-1093.
- Duthies, S., Eckersall, P.D., Addie, D.D., Lawrence, C.E., Jarret, O., 1997. Value of alpha 1-acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Veterinary Record*, 141, 299-303.
- Eckersall, P.D., 2008. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (eds) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Chapter 5, 6th edition, Academic Press, New York. 117-155.
- Ehmann, R., Kristen-Burmann, C., Bank-Wolf, B., König, M., Herden, C., Haint, T., Heinz-Jürgen, T., Ziebuhr, J., Tekesa, G., 2018. Reverse Genetics for Type I Feline Coronavirus Field Isolate To Study the Molecular Pathogenesis of Feline Infectious Peritonitis. *American Society for Microbiology*, 9, 1-17.
- Ellah, M.R.A., Nishimori, K., Goryo, M., Okada, K., Yasuda, J., 2004. Serum adenosine deaminase activity in bovine liver diseases. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 66, 1421-1422.
- Fehr, A.R., Perlman, S., 2015. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Methods in Molecular Biology*, 1282, 1-23.

- Flinn, A.M., Gennry, A., 2018.** Adenosine deaminase deficiency: a review. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 13, 1-7.
- Giordano, A., Spagnolo, V., Colombo, A., Paltrinieri, S., 2004.** Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Veterinary Journal*, 167, 38-44.
- Gökçe, H.I., Bozukluhan, K., 2009.** Çiftlik Hayvanlarında Önemli Akut Faz Proteinleri ve Bunların Veteriner Hekimlikte Alanındaki Kullanımı. *Dicle University Journal of The Faculty of Veterinary Medicine*, 1, 1-14.
- Haran, J.P., Beaudoin, F.L., Suner, S., Lu S., 2013.** C-reactive protein as predictor of bacterial infection among patients with an influenza-like illness. *American Journal of Emergency Medicine*, 31, 137–144.
- Hartmann, K., Binder, C., Hirschberger, J., Cole, D., Reinacher, M., Schroo, S., Frost, J., Egberink, H., Lutz, H., Hermanns, W., 2003.** Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17, 781-790.
- Hazuchova, K., Held, S., Neiger, R., 2017.** Usefulness of acute phase proteins in differentiating between feline infectious peritonitis and other diseases in cats with body cavity effusions. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19, 809-816.
- Jeffery, U., Deitz, K., Hostetter, S., 2012.** Positive predictive value of albumin: globulin ratio for feline infectious peritonitis in a mid-western referral hospital population. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14, 903-905.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 2008.** *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Chapter 5, 6th edition, Academic Press, New York. 117-155.
- Kapiszyz, P., Argjiri, D., Byrazeri, G., Mitre, A., Beli, J., Vabeflliu, Y., Kore, R., Shehu, E., Light, R., 2009.** Use of pleural fluid C reactive protein levels as diagnostic marker for pleural effusions. *Chest*, 136, 30-36.
- Kim, J.W., Yang, I.A., Oh, A.E., Rhyoo, Y.G., Jang, Y.H., 1988.** C reactive protein, sialic acid and adenosine deaminase levels in serum and pleural fluid from patients with pleural effusion. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 3, 122-127.
- Kipar, A., Meli, M.L., Baptiste, K.E., Bowker, L.J., Lutz, H., 2010.** Sites of feline coronavirus persistence in healthy cats. *Journal of General Virology*, 91, 1698–1707.
- Li, F., Zhang, W., Hu, H., Zhang, Y., Huang, D., 2019.** Diagnostic value of procalcitonin, C-reactive protein and lactate dehydrogenase in paediatric malignant solid tumour concurrent with infection and tumour progression. *Scientific Reports*, 9, 5903.
- Martinez-Navio, M., Casanova, V., Pacheco, R., Naval-Macabuhay, I., Climent, N., Garcia, F., Gatell, J.M., Mallol, J., Gallart, T., Lluís, C., Franco, R., 2011.** Adenosine deaminase potentiates the generation of effector, memory, and regulatory CD4 T cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 89, 127-136.
- Nagayasu, A., Kubo, S., Nakano, K., Nakayamada, S., Iwata, S., Miyagawa, I., Fukuyo, S., Saito, K., Tanaka, Y., 2018.** IgG4-related Pleuritis with Elevated Adenosine Deaminase in Pleural Effusion. *Internal Medicine*, 57, 2251-2257.
- Nalasnik, M., Nolic, J.M., Jandrics, S., 2011.** Adenosine deaminase and C-reactive protein in diagnosing and monitoring of rheumatoid arthritis. *Medicinski Glasnik, (Zenica)*, 8, 163-168.
- Niraula, A., Thapa, S., Kunwar, S., Lamsal, M., Baral, N., Maskey, R., 2018.** Adenosine deaminase activity in type 2 diabetes mellitus: does it have any role? *BMC Endocrine Disorders*, 18, 1-5.
- Oğuzoğlu, T.C., Sahna, K.C., Ataseven, V.S., Muz, D., 2010.** Prevalence of feline coronavirus (FCoV) and feline leukemia virus (FeLV) in Turkish cats. *Veterinary Journal of Ankara University*, 57, 271-274.
- Osman, R., L'allier, P.L., Elgharib, N., Tardif, J.C., 2006.** Critical appraisal of C-reactive protein throughout the spectrum of cardiovascular disease. *Vascular Health and Risk Management*, 2, 221-237.
- Pedersen, N.C., 2014.** An overview of feline enteric coronavirus and infectious peritonitis virus infections. *Feline Practice*, 23, 7-19.
- Poursharifi, P., Saghiri, R., Ebrahimi-Rad, M., Nazem, H., Pourpak, Z., Moin, M., Shams, S., 2009.** Adenosine deaminase in patients with primary immunodeficiency syndromes: The analysis of serum ADA 1 and ADA 2 activities. *Clinical Biochemistry*, 42, 1438–1443.
- Ridker, P.M., Rifai, N., Rose, L., Buring, J.E., Cook, N.R., 2002.** Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *The New England Journal of Medicine*, 14, 1557-1565.
- Ruiz Gonzalez, A., Utrillo, L., Bielsa, S., Falguera, M., Porcel, J.M., 2016.** The Diagnostic Value of Serum C-Reactive Protein for Identifying Pneumonia

in Hospitalized Patients with Acute Respiratory Symptoms. *Journal of Biomarkers*, 2016, 1-5.

Sasaki, K., Fujita, I., Hamasaki, Y., Miyazaki, S., 2002. Differentiating between bacterial and viral infection by measuring both C-reactive protein and 2'-5'-oligoadenylate synthetase as inflammatory markers. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 8, 76-80.

Sauer, A.V., Brigida, I., Carriglion, N., Aiuti, A., 2012. Autoimmune dysregulation and purine metabolism in adenosine deaminase deficiency. *Frontier in Immunology*, 3, 2-19.

Sharif, S., Arshas, S.S., Hair-Bejo, M., Omar, A.R., Zeenathul, N.A., Hafidz, M.A., 2009. Prevalence of feline coronavirus in two cat populations in Malaysia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 1031-1034.

Sproston, NR., Ashworth, J.J., 2018. Role of C-Reactive Protein at Sites of inflammation and infection. *Frontiers in Immunology*, 9, 1-11.

Sridevi, V., Chandrakanth, Vinita, A., 2018. Evaluation of Adenosine deaminase, Serum C-reactive protein and alkaline phosphatase activity in Rheumatoid Arthritis patients in Shivamogga district, South India. *International Journal of Clinical Biochemistry and Research*, 5, 138-142.

Vogel, L., Van Der Lubben, M., Te Lintelo, E.G., Bekkert, C.P., Greet, T., Schuijff, L.S., Grinwis, G.C., Egberink, H.F., Rottier, P.J., 2010. Pathogenic characteristics of persistent feline enteric coronavirus infection in cats. *Veterinary Research*, 41, 71-82.

Worthing, K., Wigney, D., Dhand, N., Fawcett, Q.A., Mcdonagh, P., Malik, K.R., Norris,

S J., 2012. Risk factors for feline infectious peritonitis in Australian cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14, 405-412.

Xu, L., Li Q., Mo Z., You P., 2016. Diagnostic value of C-reactive protein in neonatal sepsis: A meta-analysis, *European Journal of Inflammation*, 14, 100-108.

Tasker S., 2018. Diagnosis of feline infectious peritonitis: Update on evidence supporting available tests. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20, 228-243.

Koç Spermalarının Dondurulmasında Oksidatif Stres Üzerine Trolox ve Taurinin Etkisi

Effects of Trolox and Taurin on Oxidative Stress During Ram Semen Cryopreservation

Deniz YENİ^{1*}, Şükrü GÜNGÖR², Fatih ADVATEKİ¹, Muhammed Enes İNANÇ²,
Umut TAŞDEMİR³

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye
²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye
³Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Aksaray, Türkiye

Öz: Bu çalışmada Pırlak koç spermalarının üreme mevsimi dışında dondurulmasında sperma sulandırıcısına eklenen antioksidan özelliğe sahip trolox ve taurinin çözüm sonu spermatolojik parametreler üzerine etkisinin ortaya konması amaçlandı. Bu amaçla 10 baş Pırlak koçtan haftada iki kez olacak şekilde suni vajen yardımı ile spermalar toplandı. Normospermik özellik gösteren numuneler birleştirilerek sırası ile kontrol, 1 mM Trolox ve 50 mM Taurin grupları oluşturuldu. Gruplar +4° C'de 2 saat ekilibrasyon işlemi sonrası, 0,25 ml'lik payetlere çekildikten sonra -120° C sıvı azot buharında dondurularak, sıvı azot içerisinde saklandı. Çözüm sonu spermatolojik değerlendirmelerden; motilite subjektif yöntem ile, plazma membran bütünlüğü (PMAI), yüksek mitokondriyal aktivite düzeyi (HMMP) ve mitokondriyal oksidatif hasar düzeyi (MITOSOX⁺) flow sitometrik yöntem ile incelendi. Çözüm sonu motilite oranı 1 mM Trolox (%50,00±3,89) ve 50 mM Taurin (%60,62±2,57) gruplarında kontrol (35,00±2,11) grubuna yüksek elde edildi (p<0,05). Taurin 50 mM (%32,42±0,72) çözüm sonu en yüksek PMAI oranı ile kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli bulundu (p<0,05). Antioksidan ilave edilen gruplarda HMMP değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, mitokondriyal oksidatif hasar düzeyi en düşük grup Taurin 50 mM olarak belirlendi (p<0,05). Sonuç olarak Pırlak koç spermalarının sezon dışı dondurulmasında sulandırıcıya ilave edilen Trolox ve Taurinin çözüm sonu motilite, HMMP parametreleri bakımından olumlu etkileri olabileceği kanısına varılırken 50 mM Taurin ilavesinin spermanın dondurulması sonucu oluşan oksidatif stres üzerine koruyucu etkinliğinin olduğu belirlendi

Anahtar Kelimeler: Flow Sitometre, Koç Spermaları, Kriyoprezervasyon, Oksidatif Stres, Taurin, Trolox

Abstract: In this study, it was aimed the investigate the effects on Pırlak ram spermatological parameters added sperm extender which antioxidant properties of Trolox and Taurin. For this aim semen was collected with the aid of artificial vagina twice a week from 10 Pırlak ram. Semen which were normospermic pooled and occurred three group; control, 1 mM Trolox, 50 mM Taurin. Groups were equilibrated about 2 hours at + 4 ° C, frozen in liquid nitrogen vapor (-120 ° C), stored in liquid nitrogen. Pos-thawed spermatological examinations; motility was recorded subjectively, plasma membrane integrity (PMAI), high mitochondrial membrane potential (HMMP) and mitochondrial oxidative damage level (MITOSOX⁺) were evaluated by flow cytometer. Post-thawed motility ratio was higher in 1 mM Trolox (%50.00±3.89) and 50 mM Taurin groups compared the control (35.00±2.11) group (p<0.05). Taurin 50 mM (%32.42±0.72) was highest PMAI ratio and it was significantly important with control group (P<0.05). HMMP levels were higher in antioxidant groups when compared the control group and also lowest mitochondrial oxidative damage level was seen in the 50 mM Taurin (P<0.05). Finally, when freezing of Pırlak ram semen in the out of breeding season Trolox and Taurin which were added the semen extender was ameliorating effect on post thaw motility and HMMP levels. Behind this Taurin 50 mM gave the best preventive effect on oxidative damage.

Keywords: Flow Cytometer, Ram Sperm, Cryopreservation, Oxidative Stress, Taurine, Trolox.

*Corresponding author : Deniz YENİ
Geliş tarihi / Received: 20.10.2020

e-mail : dyeni@aku.edu.tr
Kabul tarihi / Accepted: 01.12.2020

Giriş

Koyunculuk endüstrisi ülkemizde son yıllarda artan kırmızı et ihtiyacını karşılamak amacıyla gelişim göstermektedir. Bu amaçla ülkemize farklı ülkelerden ırklar getirilmekte ve etçi tip sürüler oluşturulmaya çalışılmaktadır. Hayvan ithalatı zor ve çevre adaptasyonu isteyen bir süreç olarak belirtilmektedir. Buna karşın üstün verim özelliklerine sahip koçların spermasının dondurularak suni tohumlama uygulaması ile ıslah çalışmalarının yapılması koyunculuk endüstrisinde fayda sağlayabilecek geliştirilmeye açık bir alandır. Ancak koç spermasının uzun süreli saklanması ile ilgili araştırmalar gerek ülkemizde gerekse dünyada boğa spermasının dondurulmasına kıyasla standardize edilememiştir. Bu sebeple koyunlarda suni tohumlama uygulaması da sınırlı kalmaktadır (O'Hara ve ark., 2010). Koç sperması dondurma-çözdürme işlemi yüksek oranda canlılık kaybına ve sonucunda motilite oranının azalmasına neden olmaktadır (Watson, 2000). Koyunculuk endüstrisinde dondurulmuş sperma ile başarılı gebelik oranlarının elde edilebilmesinin ön koşulu olarak spermanın optimal şekilde dondurulması gerekmektedir (Roca ve ark., 2006). Koç spermasının dondurulmasında başarının artırılması amacıyla çeşitli antioksidatif özellikli maddelerin sperma sulandırıcısına eklenmesi son zamanlarda yoğun bir şekilde araştırma konusu olmuştur (Kulaksız ve Daşkın, 2007; Holt, 2000; Avdatek ve ark., 2018).

Sığır safrasından izole edilmiş olan taurin, tiyol içeren aminoasit olarak bildirilmiştir. Taurinin, Ca^{+2} akışını düzenleme, detoksifikasyon, ozmoregülasyon ve membran stabilizasyonu gibi faaliyetlerde rol aldığı ifade edilmektedir (Kendler, 1989). Vücutta hücre bütünlüğünü koruması, oksidan-antioksidan dengesi ve direncini artırması gibi özellikleri ile bir antioksidan olarak destekleyici ve koruyucu etkileri önemli bulunmaktadır (Parcell, 2002). Taurinin boğa ve koç spermasına eklenerek yapılan çalışmalarda motilite, akrozom bütünlüğü üzerine koruyucu etkinliği olduğu bildirilmektedir (Chen ve ark., 1993; Uysal ve ark., 2000; Bucak ve ark., 2007).

Vitamin E (troloks) hücre membranında zincir kırıcı antioksidan olarak görev yapan yağda

çözünen bir antioksidan olarak ifade edilmektedir. Spermatozoon konsantrasyonu ve motil hücre oranı üzerine olumlu etkisi bulunmaktadır. Spermatozoanın yaşam gücünün artırılmasında lipid peroksidasyon seviyesini düzenleyerek etkin rol oynamaktadır. Oksidatif strese karşı spermatozayı koruyucu özelliğe sahiptir (Akiyama 1999). En etkin formu alfa-tokoferol olarak bilinmektedir. Alfa-tokoferolün en önemli görevi serbest oksijen radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki doymamış yağ asitlerini korumaktır (Rice ve Kennedy 1988). Vitamin E lipid peroksidasyonu engellemek amacıyla lipid peroksili ve alkoksil radikalini nötralize etmektedir (Agarwal ve ark., 2003). Lipofilik bir antioksidan olan Vit. E hücre membranında bulunur bu sayede membran stabilitesinin sağlanmasına yardım ettiği bildirilmektedir (Özden ve ark., 2009).

Çalışmamızda Pırlak koç spermasının dondurulmasında sulandırıcıya eklenen trolox ve taurinin çözüm sonu spermatozoa motilitesi, membran bütünlüğü, mitokondriyal aktivite düzeyi ile oksidatif stres düzeyine olan etkilerinin ortaya konması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesindeki 2-3 yaşlı 10 baş Pırlak koç kullanılarak yapıldı (AKÜHADYEK-03-10). Hayvanlar yarı açık besi şartlarında tane-kaba yem karışık olarak beslenirken su adlibitum olarak verildi. Koçlardan sperma aşım sezonu dışında haftada iki kez suni vajen yardımıyla alındı. Her bir koçtan alınan nativ spermalar makroskobik ve mikroskobik yönden muayene edilerek, normospermi (%80 motilite, 2×10^9 /ml yoğunluk, sperma miktarı en az 0,5 ml) değerleri gösteren ejakülatlar birleştirildi. Birleştirilen ejakülatlar daha sonra 3 eşit gruba bölünerek (split ejakulat); biri kontrol grubu olarak ayrıldı, tris yumurta sarısı sulandırıcısı (TYS) ile sulandırıldı (Avdatek ve Gündoğan, 2018) ; diğer gruplar trolox (1 mM) ve taurin (50mM) içeren TYS solüsyonu ile ml'de 400×10^6 olacak şekilde sulandırıldı.

Çalışmadaki sulandırıcı grupları ile sulandırılan spermaların sıcaklığı $+4$ °C'ye düşürüldükten

sonra 2 saat ekilibrasyonda tutuldu. Ekilibrasyon süresi sonunda payetler sıvı azot buharında – 120°C 'de 15 dakikada dondurulduktan sonra sıvı azot içinde saklandı. Sıvı azot içerisinde saklanan payetler, her deney grubu için 37°C'deki su banyosunda 30 saniye çözdürüldü. Çözdürme sonrası motilite faz kontrast mikroskopta incelenirken, plazma membran-akrozom bütünlüğünün değerlendirilmesi (PMAI) için FITC-PNA/PI, mitokondriyal aktivitenin belirlenmesi, yüksek mitokondriyal aktivasyon (HMMP) amacıyla JC-1/PI floresan boyaması, mitokondri tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin belirlenmesinde MitoSOXRed/PI floresan boyamaları ile flowsitometri cihazında (BeckmanCulture, Cytoflex®) değerlendirildi.

Motilite

Motilite muayenesi; ısıtma tablalı (37°C) faz-kontrast mikroskopta (x400) (NiconEclips E600) 7 farklı mikroskop sahası incelenerek yapıldı. Muayene ortalamaları alındı ve motilite sonucu subjektif olarak, (%) belirlendi (Avdatek ve Gündoğan, 2018).

Flowsitometri analizleri

Flow sitometri analizleri Cytoflex Flow sitometri (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) ile yapıldı. Sperma örnekleri 488 nm (50 mW laseroutput)'lik tek lazer ve üç renkli 525 ± 40, 585 ± 42, 610 ± 20 nm filtreler ile değerlendirildi.

Çalışma solüsyonları 100 µg/mL fluorescein isotiocyanate-conjugated peanut agglutinin (FITC-PNA [L7381], 2.99 mM propidium iodide (PI, [L7011, molecular probes, Invitrogen], 0.153 mM 5,5',6,6'-tetrachloro1,1',3,3' tetramethylbenzimidazolyl-carbocyanine iodide (JC-1, T3198, molecular probes, Invitrogen) ve 5 mM MitoSOXRed (M36008, molecular probes, Invitrogen) DMSO ile hazırlanarak 0.22 µM Millipore Millex CV filtrelerden geçirildikten sonra 30 µL porsiyonlara ayrılarak -20 °C'de saklandı.

Plazma membran ve akrozom bütünlüğünün değerlendirilmesi (PMAI)

Çift boyama yönteminin kullanıldığı, FITC-PNA/PI boyamada, spermada akrozom ve plazma

membran bütünlüğü değerlendirildi. 5 µL FITC-PNA (100 µg/mL) ve 3 µL PI (2.99 mM) 492 µL fosfat buffer solüsyonuna (PBS) eklendi, daha sonra 10 µL sperma süspansiyonu bu karışıma eklenerek finalde 5x10⁶ sperm/mL konsantrasyonunda olacak şekilde sulandırıldı. Sperma örnekleri 37 °C'de 15 dakika karanlık ortamda inkübe edildi. Debris (sperma olmayan alanlar) kapı alınarak uzaklaştırıldı. Plazma membran ve akrozom bütünlüğünün değerlendirilmesi (PMAI) CytExpert 2.3 software (Beckman Coulter) analizi ile gerçekleştirildi.

Mitokondriyal aktivitenin belirlenmesi

Spermada Mitokondriyal membrane potansiyeli JC-1 boyaması ile yapıldı.

10 µL JC-1 (0.153 mM) 490 µL of PBS solüsyonuna eklendi, daha sonra 10 µL sperma bu karışıma eklenerek finalde 5x10⁶ sperm/mL konsantrasyonunda olacak şekilde sulandırıldı. Sperma örnekleri 37 °C'de 15 dakika karanlık ortamda inkübe edildi. Debris (sperma olmayan alanlar) kapı alınarak uzaklaştırıldı, Yüksek mitokondriyal aktivasyon (HMMP) ve düşük mitokondriyal aktivasyon (LMMP) CytExpert 2.3 software (BeckmanCoulter) analizi ile gerçekleştirildi.

Mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin seviyesinin belirlenmesi

Spermada Mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin seviyesi MitoSOX Red/PI boyaması ile yapıldı.

5 µL MitoSOXRed (5 mM) ve 3 µL PI (2.99 mM) 492 µL PBS solüsyonuna eklendi, daha sonra 10 µL sperma süspansiyonu bu karışıma eklenerek finalde 5x10⁶ sperm/mL konsantrasyonunda olacak şekilde sulandırıldı. Sperma örnekleri 37 °C'de 15 dakika karanlık ortamda inkübe edildi. Debris (sperma olmayan alanlar) kapı alınarak uzaklaştırıldı, MitoSOX+ (mitokondriyal reaktif oksijen türleri seviyesi) CytExpert 2.3 software (BeckmanCoulter) analizi ile gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin önemlilik testlerinden önce, tüm değişkenler parametrik test varsayımlarından

normallik yönünden ShapiroWilks test ile, varyansların homojenliği yönünden ise Levene's testi ile incelendi. Normal dağılan değişkenler arası farklılığın istatistiksel açıdan kontrolü tek varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Gruplar arası farklılığın anlamlı çıktığı değişkenler için ileri aşama (post-hoc) testi olarak Duncan testi'nden yararlanıldı. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelendi. SPSS 22.0 paket programından yararlanıldı. $p < 0,05$ düzeyi anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi.

Tablo 1. Trolox ve Taurin ile dondurulan koç spermasının çözümü sonu spermatolojik parametre (%) değerleri.

Grup	Motilite	PMAI	HMMP	MitoSOX+
Kontrol	35,00 \pm 2,11 ^a	24,20 \pm 3,41 ^a	11,88 \pm 1,59 ^a	87,33 \pm 2,74 ^a
1mM Trolox	50,00 \pm 3,89 ^b	31,17 \pm 2,38 ^{ab}	17,55 \pm 0,82 ^b	74,97 \pm 0,90 ^a
50 mMTaurin	60,62 \pm 2,57 ^c	32,42 \pm 0,72 ^b	24,25 \pm 1,08 ^c	73,22 \pm 1,00 ^b
P	*	*	*	*

a-b-c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0,05$).

Tartışma

Koç spermasının kriyoprezervasyonu sürecinde soğuk şokuna karşı göstermiş olduğu hassasiyet sonucu spermatozoa üzerindeki hasarı artırarak çözümü sonu in vivo ve in vitro özellikleri üzerine olumsuz etki vermektedir. Bunun oluşumunu engellemek ya da azaltmak amacıyla araştırmacılar sulandırıcıya koruyucu ve antioksidan özellikli çeşitli maddelerin eklenmesi üzerine çalışmalar yapmaktadır. Doymamış yağ asitlerini yüksek oranda barındıran koç sperma membranı reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu lipid peroksidasyona (LPO) karşı hücreyi oldukça duyarlı hale getirmektedir. Spermanın dondurulma çözdürülme sürecinde membranda gelişen faz değişimi hücrenin fiziksel ve biyokimyasal (oksidatif stres) olarak hasar görmesine neden olmaktadır. Oluşan oksidatif stres ve meydana gelen sitotoksik aldehitler spermatozoanın hasar görmesine ve normospermik özelliklerini kaybetmesine sebep olmaktadır (Aitken ve ark., 1994; Baumber ve ark., 2000). Motil hareket 3 temel prensibe bağlıdır: Fiziksel bütünlük, enerji ve regülasyon. Gözlenen hareketin düzenlenmesinde spermatozoonun orta

Bulgular

Elde edilen sonuçlara göre antioksidan eklenen gruplarda çözümü sonu spermatozoa motilitesi ve HMMP düzeyi bakımından kontrol grubuna göre üstünlük sağlarken en yüksek motilite ve HMMP oranı taurin eklenen grupta elde edildi ($p < 0,05$). Taurin 50 mM grubunda çözümü sonu PMAI değeri en yüksek bulunurken oksidatif hasar düzeyi en düşük grup olarak kontrol ve trolox 1 mM grubuna göre önemli bulundu ($p < 0,05$, Tablo1).

kısımındaki flagellar ve prinsipal bölge sağlamaktadır. Motil hareket flagellar kısımdan, hiperaktivasyon ise prinsipal kısımdan kontrol edilmektedir (Suarez ve ark., 2007). Orta kısımda görülen bu kontrol mekanizması doymamış yağ asitleri ve doymuş protein kanalları sebebiyle ROS ve sonucunda oluşan LPO'ya karşı son derece duyarlı kılmaktadır. Sulandırıcıya eklenen aminosit yapıda tiyol bileşiği olan taurinin bu yapı üzerine kalkan oluşturarak koruyucu özellik gösterdiğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Uysal 2000; Bucak ve ark., 2007). Aynı şekilde zincir kırıcı özelliğe olan trolox spermanın dondurulma sürecinde sperma motilitesi üzerine koruyucu özellik gösterdiği bildirilmektedir (Avdatek ve ark., 2019). Elde edilen sonuçlara göre sulandırıcıya eklenen trolox ve taurinin çözümü sonu motilite üzerine kontrol grubuna göre üstünlük sağladığı belirlenmiş olup araştırmacılar ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Spermatozoa aktivitesinin yüksek olması yüksek mitokondriyal yapıya sahip olduğunun göstergesidir. Bu yapıların kabiliyeti ATP ihtiva eden enzimler ile doğru orantılı olarak faaliyet göstermektedir. Sulandırıcıya eklenen trolox ve taurin ile bu yapıların desteklendiği elde edilen sonuçlar ile belirtilirken 50 mM dozunda

eklenen taurinin mitokondriyel aktivitede oksidatif dekarboksilasyon metabolizmasına koenzim görevi üstlenerek ATP seviyesinin korunmasında en yüksek düzeyde etki yapmıştır. Elde edilen bu sonuç Bucak ve ark., 2007; Bandy ve ark., 2017 ile benzerdir.

Spermanın muhteviyatında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) gibi enzimatik oksidantlar içermektedir. Ortamda gerçekleşen ROS üretimi ve eliminasyonu arasındaki denge ve ROS'un spermatozoa üzerindeki olumsuz etkileri bu şekilde minimize edilmeye çalışılmaktadır. Ancak spermanın sulandırılması anında başlayan dondurulma sürecine kadar geçen süreçte bu denge ROS lehine bozulmakta ve antioksidan kapasite yetersizliği ortaya çıkmaktadır (de Lamirande ve ark., 1997; O ve ark 2006). Sulandırıcıya eklenen antioksidanlar sayesinde ROS'un etkinliği azaltılıp hücrenin geri dönüşümsüz olarak maruz kaldığı etkilerden korunması amaçlanmaktadır. Bu amaçla çalışmada antioksidan özellikle olan trolox ve taurin çözüm sonu oksidatif stres düzeyinde anlamlı şekilde etki gösterdiği taurin 50 mM en yüksek koruyuculu sağladığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuç Bucak ve ark., 2007, Bandy ve ark., 2017 ve Avdatek ve ark., 2019 ile benzer şekilde olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, üreme mevsimi dışında Pırlak koç spermasının dondurulmasında trolox ve taurinin çözüm sonu spermatojistik parametreleri üzerine olumlu etki yaptığı, Taurin 50 mM dozunun üstün antioksidatif özellik göstererek motilite, yüksek mitokondriyal aktivite ve oksidatif stres üzerine daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçların daha iyi anlaşılabilmesi ve endüstriyel olarak koç spermasının dondurulmasının yaygınlaştırılması amacıyla in vivo denemeler yapılarak desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

Agarwal, A., Saleh, R.A., Bedairy, M.A., 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Sterility*, 79: 829–843.

Aitken, J., Krausz, C., Buckingham, D., 1994. Relationships between biochemical markers for residual

sperm cytoplasm, reactive oxygen species generation, and the presence of leukocytes and precursor germ cells in human sperm suspensions. *Molecular Reproduction and Development*, 39: 268–279.

Akiyama, M., 1999. In vivo scavenging effects of ethyl cysteine on reactive oxygen species in human semen. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 90: 421–428.

Avdatek, F., Gündoğan, M., 2018. Effects of some antioxidant additives on spermatological parameters, oxidative stress and DNA damage after freezing-thawing process in ram semen. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 32 (2):135 – 142.

Avdatek, F., Yeni, D., Birdane, M.K., Gündoğan, M., 2019. Influence of Trolox and Alpha-Lipoic Acid on Post-Thawed Pırlak Ram Sperm Parameters, Oxidative Stress and DNA Damage in Non-Breeding Season. *Kocatepe Veterinary Journal*, 12 (3):363-369.

Avdatek, F., Yeni, D., Gündoğan, M., 2018. Merinos Koçlarda Spermaya Katılan Antioksidanların Kısa Süreli Saklama Sırasında Spermatojistik Parametreler ve DNA Hasarı Üzerine Etkileri. *Kocatepe Veterinary Journal*, 11(2):7-8.

Bandy, M.N., Lone, F.A., Rasool, F., Rashid, M., Shikari, A., 2017. Use of antioxidants reduce lipid peroxidation and improve quality of crossbred ram sperm during its cryopreservation. *Cryobiology*, 74:25-30.

Baumber, J., Ball, B.A., Gravance, C.G., Medina, V., Daviesmorel, M.C.G., 2000. The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. *Journal of Andrology*, 21:895-902.

Bucak, M.N., Ateşşahin, A., Varışlı, O., Yüce, A., Tekin., Akçay, A., 2007. The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen microscopic and oxidative stress parameters after freezing-thawing process. *Theriogenology*, 67:1060-1067.

Chen, Y., Foote, R.H., Brockett, C.C., 1993. Effect of sucrose, trehalose, hypotaurine, taurine and blood serum on survival of frozen bull sperm. *Cryobiology*, 30:423-431.

De Lamirande, E., Jiang, H., Zini, A., Kodama, H., Gagnon, C., 1997. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Reviews of Reproduction*, 2:48-54.

Holt, W.V., 2000. Fundamental aspects on sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology*, 53:47-58.

Kendler, B.S., 1989. Taurine: An overview of its role in preventive medicine. *Prevent Medicine*, 18: 79.

Kulaksiz, R., Daşkın, A., 2007. Teke spermasının kısa ve uzun süreli saklanması. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 78 (4):51-56.

O, W.S., Chen, C., Chow, P.H., 2006. Male genital tract antioxidant enzymes and the inability to preserve sperm DNA integrity. Molecular and Cellular Endocrinology, 250:80-83.

O'Hara, L., Hanrahan, J.P., Richardson, L, Donovan, A., Fair, S., Evans, A.C., Lonergan, P., 2010. Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. Theriogenology, 73 (4):541-549.

Özden, S., Catalgol, B., Gezcinci, S., Arda, P., Bolkent, S., Alpertunga, B., 2009. Methiocarb-induced oxidative damage following subacute exposure and the protective effects of vitamin E and taurine in rats. Food and Chemical Toxicology, 47:1676-1684.

Parcell, S., 2002. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. Alternative Medicine Review, 7:22-24.

Rice, D., Kennedy, S., 1988. Vitamin E: function and effects of deficiency. British Veterinary Journal, 144:482-492.

Roca, J., Hernandez, M., Carvajal, G., Vazquez, J.M., Martinez, E.A., 2006. Factors influencing boar sperm cryosurvival. Journal of Animal Science, 84:2692-2699.

Suarez, S., Marquez, B., Harris, T.P., Schimmenti, J.C., 2007. Different regulatory systems operate in the midpiece and principal piece of the mammalian sperm flagellum. Society of Reproduction and Fertility, 65: 331-334.

Uysal, O., Kinet, H., Çevik, M., Çetinkaya, S., 2000. Fertility obtained from frozen ram semen with different extenders containing varied antioxidants. Ankara Üniversitesi Veteriner Dergisi, 47:177-189.

Watson, P.F. 2000. The Causes of Reduced Fertility with Cryopreserved Semen. Animal Reproduction Science, 60: 481-492.

Yeni Sütten Kesilmiş Besi Buzağlarında Transport Sonrası Klinik Gözlemler

Clinical Observations of Recently Weaned Beef Calves After Transport

Yiğit TAN^{1*} , Ramazan YILDIZ² 

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

Öz: Bu çalışmada yeni sütten kesilen besi buzağlarında transport sonrası ilk günkü klinik bulguların ve stres yapıcı faktörlerin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada araca bindirme, taşıma ve padoklara ayırma işleminde ortalama 5-6 saatlik bir süre geçiren 160 adet sütten kesme döneminde erkek buzağlar kullanıldı. Hayvanlar 70 ile 90 günlük yaş aralığındaki holştayn ırkı buzağlardan oluştu. Taşıma işlemine tabi tutulacak hayvanlar nakilden bir gün önce sağlıklı görünümde olduğu tespit edilen hayvanlardan seçildi. Çalışmaya alınan hayvanlarda nakil işlemi sonunda iniş rampasında ve padoklara alınırken yaşadıkları strese bağlı hareketlerde tedirginlik tespit edildi. 160 hayvandan 110 tanesinin kritik sınır olarak bildirilen 39.4'ün üzerinde vücut ısısına sahip olduğu, hiçbirinde spontan öksürük ve kulaklarda düşüklük olmadığı belirlendi. Ancak 15 hayvanda hafif bir palpasyonda öksürüğün tetiklendiği, 34 hayvanda da tek ve/veya çift taraflı gözyaşı akıntısı olduğu ve 11 hayvanda da serö-müköz bir nazal akıntı varlığı tespit edildi. On üç hayvanın vücut ısısı 40 derecenin üzerindeydi. Hayvanların ilk 3 saat yem ve suya ilgi göstermediği ve genelde sternal pozisyonda yatma eğiliminde olduğu görüldü. Yeme alışma süreçlerinin en az 1 hafta sürdüğü görüldü. Sonuç olarak hayvanların sütten kesme döneminde toplulaştırma yapılan buzağların nakil süreci ile birlikte oluşan strese bağlı pnömöniye yatkınlıklarının arttığı tespit edildi. Bu sürecin çok iyi gözlemlenmesi ve alışma dönemindeki sürü gözlemlerine önem verilmesi gerektiği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Buzağlar, Nakil, Stres, Pnömoni.

Abstract: In this study, it was aimed to evaluate the clinical findings and stress factors on the first day after transportation in recently weaned beef calves. In study, 160 recently weaned male calves, which spend an average of 5-6 hours in loading, carrying, and separating into paddocks, were used. The animals included in the study consisted of Holstein breed calves between the ages of 70 and 90 days. The animals for the transportation were selected from those found to have a healthy appearance the day before the transport. In the study, anxiety was detected in the animals due to the stress they experienced while being taken to the landing ramp and paddocks at the end of the transport process. It was determined that 110 of 160 animals had a body temperature above 39.4, and none had spontaneous cough and the droop of ears. However, a mild palpation triggered cough in 15 animals, single and / or double ocular discharge in 34 animals, and a serou-mucous nasal discharge in 11 animals. Three animals had a body temperature above 40 degrees. It was observed that the animals did not show interest in feed and water for the first 3 hours and generally tended to sternal position. It was observed that the process of getting used to eating took at least 1 week. In conclusion, it was determined that calves that were crowding after the weaning period susceptibility to stress-related pneumonia with the transportation process. It was seen that this process should be observed very well and attention should be paid to herd observations during the acclimation period.

Keywords: Calves, Transport, Stress, Pneumoni.

*Corresponding author : Yiğit TAN
Geliş tarihi / Received: 09.11.2020

e-mail : yigitan@ogr.mehmetakif.edu.tr
Kabul tarihi / Accepted: 01.12.2020

Giriş

Çiftlik hayvanlarında nakil işlemi hayvanların gruplandırılması, sütten kesme döneminde yer değiştirmeler veya kesime sevkler sırasında yapılması zorunlu hale gelen işlemler arasındadır.

Hayvan refahını olumsuz yönde etkilemesi ve verim kaybına neden olması nedeniyle de halen güncelliğini korumaktadır (Swanson ve Morrow-Tesch, 2001, Guzel ve ark., 2010, Schwartzkopf-Genswein ve Grandin, 2014). Nakil süreci, buzağları sığır solunum yolu hastalığı (BRD)

gelişimine yatkın hale getiren bir stres faktörüdür. Sığır üretim maliyetinin en az %7'lik kısmı BRD ile ilişkili kayıplardan olduğu bildirilmektedir (Griffin, 1997). Günümüz dünyasında sığır eti endüstrisinin altyapısı, Avrupa Birliği dahil olmak üzere karayolu ve uluslararası olarak büyükbaş hayvanların taşınması ihtiyacını ortaya koymaktadır. Sığırların taşınması, ölçülebilir biyolojik bir tepkiye neden olan bir stres etkenidir. Taşıma stresinin etkisiyle yaygın olarak 'shipping fever' olarak adlandırılan sığır solunum hastalığının artması, büyük ekonomik kayıplara ve hayvan refahı ilgili endişelere yol açmaktadır (Duff ve Galyean, 2007). Sığırların alt solunum yollarının bir hastalığı olan sığır solunum hastalığı kompleksi (BRDC), enfeksiyöz ajanların, konakçı faktörlerin, çevresel stres faktörlerinin ve bunların etkileşimlerinin çok faktörlü bir etiyojisine sahiptir ve bronkopnömoni ile sonuçlanır (Caswell, 2014; Guzman ve Taylor, 2015). Bu çalışmada yeni sütten kesilen besi buzağlarında transport sonrası ilk günlük klinik bulguların ve stres yapıcı faktörlerin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada araca bindirme, taşıma ve padoklara ayırma işleminde ortalama 5-6 saat geçiren 160 adet yeni sütten kesilmiş erkek buzağı kullanıldı. Hayvanlar 70 ile 90 günlük yaş aralığındaki holştayn ırkı buzağlardan oluştu. Hayvanlar 40'lı gruplar halinde 7 günlük periyotlarla aynı araç, aynı şoförle aynı çiftlikten getirilerek aynı işçiler tarafından araçtan indirildi. Şoför tarafından nakil işlemi sırasında iki defa 10 dakikalık bir mola verilerek hayvanların genel durumları kontrol edildi. Buzağların klinik gözlemleri sırasında araştırmacıların (Poulsen ve McGuirk, 2009) pnömoni tanısında kullandığı skor tablosundan yararlandı (Tablo 1). Bu skorlamada vücut ısısı, burun akıntısı, göz yaşı akıntısı, kulaklarda düşme olup olmadığı gibi bulgular değerlendirildi. Araştırma öncesi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'na başvurularak ve 2019-574 sayılı kararı ile çalışma izni alınmıştır.

Bulgular

Sunulan çalışmada tüm hayvanların klinik kontrolleri ve gözlemleri yapıldı. Hayvanlarda fiziksel olarak ciddi bir hasarın olmadığı ancak nakil sonrası 1 veya 2 hayvanda tırnak veya boynuz yaralanmaları ya da hafif topallama olduğu görüldü. Hayvanlarda korku ve endişe durumu varlığı tespit edildi. Biniş ve iniş rampalarında geriye kaçışların ve sıkışmaların fazla olduğu hayvanların aşırı strese girdikleri görüldü. Nakliye sonrası en uzun zamanın iniş rampasında ve 10'arlık padoklara alınırken geçirildiği tespit edildi. 160 hayvandan 110 tanesinin kritik sınır olarak bildirilen 39.4°C üzerinde vücut ısısına sahip olduğu, hiçbirinde spontan öksürük ve kulaklarda düşüklük olmadığı belirlendi. Ancak 15 hayvanda hafif bir palpasyonla öksürüğün tetiklendiği, 34 hayvanda da tek ve/veya çift taraflı gözyaşı akıntısı olduğu, 11 hayvanda da serö-müköz karakterde nazal akıntı varlığı tespit edildi. On üç hayvanda 40 derecenin üzerinde vücut ısısı olduğu belirlendi. Dört hayvanda öksürük ile nazal akıntının beraber seyrettiği ve yalnızca birinde vücut ısısının yüksek olduğu görüldü. Üç hayvanda ise öksürük, gözyaşı ve vücut ısısı yüksekliği bulgularının beraber bulunduğu saptandı. Takip sonunda ilk hafta pnömoni semptomu gösteren hayvanların genellikle vücut ısısı yüksek olan ve nazal akıntı, gözyaşı ve öksürük semptomlarından ikisinin pozitif olduğu hayvanlar olduğu tespit edildi. İlk bir haftada pnömoni semptomu gösteren gruplarda ilk göze çarpan bulgunun gözyaşı akıntısı olduğu görüldü. Hayvanların ilk 3 saat yem ile suya ilgi göstermediği ve genelde sternal pozisyonda yatma isteği taşıdığı görüldü. Yeme alışma sürecinde hayvanların ilk üç gün normal porsiyonunun %30-40 civarında yem tükettiği, 5. gün bunun %50 civarına ulaştığı, bir hafta sonunda ise hayvanların normal porsiyon tüketimine geçtiği belirlendi. Hayvanlarda ilk haftada dışkı renginde değişimler görüldü ve yaklaşık %10'unda yem değişimine bağlı ishal tespit edildi. İshal için herhangi bir ilaç tedavisi uygulamadan iyileşenler olduğu gibi maya uygulaması sonrasında tedaviye cevap verenler de olduğu gözlemlendi. Taşıma işlemi yapılan buzağlar tamamen sağlıklı görünümde (burun akıntısı, gözyaşı akıntısı, öksürük vb. semptomu olmayanlar) olan

hayvanlardan seçildi ancak geçmişindeki hastalık kayıtları ve araca bindirilmeden önceki detaylı

klirik bulgularının (vücut ısısı vb.) bilinmemesi bu çalışmanın sınırlayıcı etmenlerindedir.

Tablo 1. Buzağların klinik bulguları.

Hayvan sayısı (n:160)	Vücut ısısı $\geq 39,4$	Öksürük (palpasyon esnasında)	Nazal akıntı	Göz yaşı akıntısı	Kulaklarda düşme
	110	15	11	34	0

Tartışma

Sığırlarda çoklu stres faktörlerinin (ani sütten kesme, kısırlaştırma ve olumsuz iklim koşulları) neden olduğu bağışıklık fonksiyonundaki değişikliklerle beraber taşıma stresinin yaşandığı durumların BRDC'nin ortaya çıkmasında etkili olduğu bilinmektedir (Blecha ve ark., 1984; Murata ve ark., 1987; Lekeux, 1995; Griebel ve ark., 2014, Basoglu ve ark., 2016). Süt buzağlarının önemli bir protein kaynağıdır ve beslenmedeki önemini korumaktadır (Keyvan ve ark., 2020). Buzağlarda sütten kesme, doğumdan sonra en önemli ikinci stres faktörüdür. Buzağının sütten kesme işlemine tepkisinin şiddeti sütten kesme yöntemi, sütten kesme yaşı, barındırma veya beslenme programı gibi birçok etkili faktöre bağlıdır (Sweeney ve ark., 2010). Bu dönemde buzağların vücut ağırlığı azalmaktadır ve davranış kalıpları olumsuz bir duygusal durum olduğunu göstermektedir. Buzağların solunum sistemi hastalıkları kompleksi özellikle sütten kesme dönemindeki buzağlarda en önde gelen ölüm nedenleri arasında yer alır (Earley ve ark., 2017, Mamak, 2017). Sütten kesilmeyenlerde ise ishal problemlerinden sonra ikincil ölüm nedenini oluşturmaktadır. Bu kompleks, çoğunlukla viral ve bakteriyel hastalıkları içerir ve enzootik pnömoni adı altında tanımlanır (Güneş, 2018).

Hayvan taşımacılığı çeşitli nedenlerden dolayı endişe kaynağıdır. Hayvanlarda şiddetli strese neden olabilir ve hayvan refahını kötü yönde etkiler. Stresli taşımaların et kalitesi üzerinde olumsuz bir etkisi olabilir. Ayrıca bulaşıcı hastalıkların uzak mesafelere yayılma riski vardır. Nakliye öncesi ve nakliye sırasında çeşitli nedenlerle hayvan sağlığı bozulabilir ve yaralanmaya neden olabilir, performansı

düşürebilir ve hayvanlarda hastalıkların gelişmesini tetikleyebilir. Avrupa Birliği'nde (AB) yılda en az 315 milyon çiftlik hayvanı taşınmaktadır. AB içinde hayvan ticareti, ithalat ve ihracat yılda yaklaşık 13 milyon hayvandan oluşmaktadır. Buzağlarda taşımaya bağlı sağlık bozuklukları ve kayıpları için en önemli risk faktörleri şu durumlarda görülmektedir: (1) taşımaya uygun olmayan hayvanlar; (2) immünesupresyon faktörlerinin neden olduğu enfeksiyona karşı artan duyarlılık; (3) bulaşma riskinin artışı; (4) enfekte hayvanlarla temas; (5) patojenlerin direnci; (6) uygunsuz taşıma, yolculuk süresi, yolculuk esnasında yem ve su ihtiyaçlarının yeterince giderilememesi gibi taşıma ile ilgili stres etkenleri olarak sıralanabilir. (Hartung, 2003).

Buzağı bağışıklığındaki değişiklikler, taşıma stresini takiben büyük önem taşımaktadır, çünkü bu değişikliklerin solunum hastalığı insidansı ve ciddiyetinin artmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Blecha ve ark., 1984). Bağışıklık sistemi, bulaşıcı patojenlere spesifik yanıtlar sağlar ve bu nedenle yanıt oluşturması birkaç gün sürebilir (Sordillo, 2016). Sığırların taşınması, hücresel (Simensen ve ark., 1980) ve humoral (Murata ve ark., 1987) bağışıklık tepkilerini bozarak hastalıklara karşı duyarlılıklarını değiştirir. Belirli bir stresör, humoral tepkileri bastırırken hücre aracılı bağışıklık tepkilerini artırabilir veya tam tersi bu bileşenler arasındaki dengeyi bozabilir (Salak-Johnson ve McGlone, 2007). Riondato ve ark. (2008) tarafından, akış sitometrisi ile buzağlarda taşınmanın periferik kan lenfosit alt grupları üzerindeki etkisi araştırılmış ve nakilden hemen sonra tüm T lenfosit alt kümelerinin yüzdelerinde bir azalma gözlemlenmiştir. Murata ve ark. (1987) sığırların taşınmasını takiben T lenfosit

sayılarında azalma ve B lenfosit sayılarında değişiklik olmadığını bulmuşlardır. İmmün reaktivitenin temel parametrelerinden biri olan mitojen kaynaklı lenfosit uyarımında azalma, sığırlarda taşıma stresi sırasında bildirilmiştir. Bir antijene yanıt olarak lenfosit blastogenezinde veya sitokin üretiminde bir azalma gözlemlenmiştir (Blecha ve ark., 1984; Murata ve ark., 1987). Dixit ve ark. (2001) tarafından taşınmamış kontrollere kıyasla taşınan buzağlarda immünoglobulin G1 konsantrasyonlarının yükseldiğini bulmuştur. Bu durum, B lenfosit alt kümelerinin olası bir artmış fonksiyonuna işaret etmektedir. Yapılan çalışmada vücut sıcaklığının yükselmesi, uyarılmış öksürük, gözyaşı ve nazal akıntı hayvanların taşıma stresi sonrasındaki belirlenen ilk klinik bulgulardır. Hayvanların transport sonrası yem ve suya ilgi göstermemeleri ve yem porsiyonlarındaki bir haftalık düşük seyir göstermesi ve bu süreçte pnömونيye yatkınlıkları da yapılan çalışmalarla (Blecha ve ark., 1984; Murata ve ark., 1987; Hartung, 2003; Riondato ve ark., 2008; Sordillo, 2016) uyumluluk göstermektedir. Nakil işlemi yapılacak hayvanlar ciddi hastalık oluşumuna, yaralanma ve sistem bozuklukları geliştirmeye eğilimlidir. Nakil işlemine tabi tutulan buzağlarda ve koyunlarda (sığır herpes virüsü 1, pastörelloz 'shipping fever') yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden pnömوني gibi enfeksiyonlara duyarlılık artmaktadır. Nakilden hemen önce süttten kesme, yem değişikliği, yetersiz havalandırma, kalabalık barındırma, maternal antikor eksikliği gibi stres faktörlerinden kaçınmak gerekmektedir. Nakil stresi, subklinik enfeksiyonlu hayvanlarda patojen bulaşma düzeyini ve süresini dolayısıyla da bulaşıcılıklarını artırabilir. Bu nedenle, nakledilmeden önce hayvanların klinik muayenesi yapılmalıdır. Örneğin nakilden hemen önce stres yaratıcı bir tedavi ve aşı yapılmaması çok önemlidir. Enfekte hayvanların temas yoluyla patojen bulaşması önlenmelidir. Farklı sürülerden hayvanların birbirine karışmaması gerekmektedir. Ayrıca patojenlerin dışkı, toz ve mikroorganizmalar gibi çevresel bileşikler yoluyla dolaylı olarak bulaşması önlenmelidir. Yükleme noktalarının, varış yerlerinin, araçların temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi çok önemlidir (Hartung, 2003). Ancak gelecekteki

çalışmalar, süttten kesilmiş buzağlarda stres ve hücre aracılı immün denge (Th1/Th2 balans) arasındaki ilişkinin karmaşıklığını ve nakliye ve barınma sonrasında BRD'ye yenik düşme nedenlerini ele almalıdır.

Sonuç olarak süttten kesme döneminde toplulaştırma yapılan buzağların nakil süreci ile birlikte oluşan strese bağlı pnömونيye yatkınlıklarının arttığı tespit edildi. Bu süreçte sürü gözleminin çok önemli olduğu sonucuna varıldı. Yapılan çalışmada klinik skor parametrelerinin sürü gözleminde kullanılmasının yararlı olacağı görüldü. Hayvanların süttten kesme dönemindeki alıştırma zamanı tamamlandıktan sonra uygun refah koşullarında nakil edilmesinin hastalıklara predispozisyonunu azaltacağı değerlendirildi. Hayvanların taşıma öncesi ve sonrasında günlük olarak ayrıntılı klinik takip yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu saptandı.

Teşekkür

Bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Ofisi'nden (Bilimsel Araştırma Projeleri No. 0618-YL-19) alınan hibe ile desteklenen tez çalışmasından üretilmiştir.

Kaynaklar

Basoglu, A., Baspinar, N., Tenori, L., Vignoli, A., Yıldız, R., 2016. Plasma Metabolomics In Calves With Acute Bronchopneumonia, *Metabolomics-Springer* 128, 1-10.

Blecha, F., Boyles, S.L., Riley, J.G., 1984. Shipping Suppresses Lymphocyte Blastogenic Responses in Angus and Brahman × Angus Feeder Calves, *Journal of Animal Science* 3, 59, 576–583.

Caswell, J. L., 2013. Failure of respiratory defenses in the pathogenesis of bacterial pneumonia of cattle. *Veterinary Pathology* 2, 51, 393-409.

Duff, G.C., Galyean, M.L., 2007. Recent Advances in Management of Highly Stressed, Newly Received Feedlot Cattle. *Journal of Animal Science* 85, 823-840.

Grandin, T., 2015. Cattle Transport by Road, *Livestock Handling and Transport* 9, 4, 143-173.

Griebel, P., Hill, K., Stookey J., 2014. How stress alters immune responses during respiratory infection. *Cambridge University Press* 2, 15, 161-165.

Griffin, A., 1997. The Effect of Project and Process Characteristics on Product Development Cycle Time. *Journal of Marketing Research* 34, 1.

Guzel, M., Karakurum, M.C., Durgut, R., Mamak, N., 2010. Clinical efficacy of diclofenac sodium and flunixin meglumine as adjuncts to antibacterial treatment of respiratory disease of calves. *Australian Veterinary Journal* 88, 236–239.

Güneş, V., 2018. Buzağı Solunum Sistemi Hastalıkları. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 58 (Özel Sayı) 35-40.

Earley, B., Sporer, K.B., Gupta, S., 2017. Invited review: Relationship between cattle transport, immunity and respiratory disease. *Animal* 3, 11, 486-492.

Hartung, J., 2003. Effects of Transport on Health of Farm Animals, *Veterinary Research Communications*, 1, 27, 525–527.

Keyvan, E., Yurdakul, O., Şen, E., 2020. Staphylococcal Enterotoxins and Enterotoxigenic Staphylococcus aureus in Raw Milk: A Screening Study. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2, 13, 1-1.

Lekeux, P., 1995. Bovine respiratory disease complex. An European perspective. *The Bovine Practitioner* 29, 5-71.

Maheswaran, S.K., Berggren, K.A., Simonson, R.R., Ward, G.E., Muscoplat, C.C., 1980. Kinetics of interaction and fate of *Pasteurella bemoalytica* in bovine alveolar macrophages. *Infection and Immunity* 1, 30, 62-254.

Mamak, N., 2017. Sığırlarda Histophilus Somni Enfeksiyonu (Histofilozis). *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences- Internal Medicine - Special Topics* 3, 2, 90-185.

Murata, H., Takahashi, H., Matsumoto H., 1987. The effects of road transportation on peripheral blood lymphocyte subpopulations, lymphocyte blastogenesis and neutrophil function in calves. *British Veterinary Journal* 2, 143, 166-174.

Poulsen, K.P., McGuirk S.M., 2009. Respiratory disease of the bovine neonate. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 1, 25, 37-121.

Riondato, F., D'Angelo, A., Miniscalco, B., Bellino, C., Guglielmino, R., 2008. Effects of road transportation on lymphocyte subsets in calves. *The Veterinary Journal* 3, 175, 364-368.

Salak-Johnson, J.L., McGlone J.J., 2006. Making sense of apparently conflicting data: stress and immunity in swine and cattle. *Journal of Animal Science* 85, 13, 8-81.

Sordillo, L.M., 2016. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *Journal of Dairy Science* 6, 99, 4967-4982.

Swanson, J. C., Morrow-Tesch J., 2001. Cattle transport: Historical, research, and future perspectives, *Journal of Animal Science*, 79, 102-109.

Sweeney B.C., Rushen J., Weary D.M. and de Passillé A.M., 2010. Duration of weaning, starter intake, and weight gain of dairy calves fed large amounts of milk. *Journal of Dairy Science* 1, 93, 148-152.

Taylor, G., Guzman E., 2015. Efficacy of a virus-vectored vaccine against human and bovine respiratory syncytial virus infections. *Science Translational Medicine* 300, 17, 127ra300.

Wang, H., Marsters, S.A., Baker, T., Chan, B., Lee, W.P., Fu, L., Tumas, D., Yan, M., Dixit, V.M., Ashkenazi, A., Grewal, I.S., 2001. TACI-ligand interactions are required for T cell activation and collagen-induced arthritis in mice. *Nature Immunology* 2, 632–637.

Neonatal Buzağı İshallerinde Farklı Etiyolojik Faktörlerin Hemogram Parametreleri Üzerine Etkisi

The Effects of Different Factors on Hemogram Parameters on Neonatal Calves with Diarrhea

Türker ATCALI^{1*} , Ramazan YILDIZ² 

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Tarım ve Hayvancılık MYO, Veterinerlik Bölümü, Burdur, Türkiye

²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

Öz: Bu çalışmada; neonatal ishallerde farklı etiolojik faktörlerin hemogram parametreleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Araştırmada 1-20 günlük yaşta 44 ishalleri, 18 sağlıklı toplam 62 buzağı kullanıldı. Rektumdan alınan dışkı örneklerinde *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Cryptosporidium*, *Rotavirus* ve *Coronavirus* etkenlerine yönelik immunokromatografik test kitleriyle bakılıp buzağular gruplandırıldı. *Vena jugularis*'den alınan kanlarda total lökosit, granülosit, lenfosit, monosit, eritrosit ve hematokrit parametreleri ölçüldü. Deney grubu buzağuların total lökosit, granülosit ve monosit düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek ($p < 0,05$) olduğu saptandı. Lenfosit, eritrosit ve hematokrit düzeyleri yönünden ise kontrol ve deney grubu buzağular arasında farklılık tespit edilmedi. İncelenen tüm hemogram bulguları yönünden alt deney gruplarındaki buzağuların kendi aralarında ve kontrol grubuyla arasındaki farkların önemsiz olduğu ($p > 0,05$) belirlendi. Sonuç olarak hemogram parametrelerinin ishallerde önemli rolü ancak etiolojik faktörlere göre farklılık göstermediği görüldü. Bu değişikliklerin etiolojik faktörlerin tipi, sayısı, hayvanın durumu, tablonun şiddeti/süresi gibi birçok faktörden etkilenebileceğinden dolayı değişiklik göstermediği kanısına varıldı. Konuyla ilgili daha fazla hayvan üzerinde ve çevresel faktörlerin kontrol altına alındığı çalışmaların yapılması gerektiği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Neonatal ishaller, Etiyoloji, Hemogram parametreleri.

Abstract: In this study; It was aimed to determine the effect of different etiological factors on hemogram parameters in calves with neonatal diarrhea. A total of 62 calves, 44 with diarrhea and 18 healthy calves, aged 1-20 days were used in the study. Stool samples taken from the rectum were examined with immunochromatographic test kits for *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Cryptosporidium*, *Rotavirus* and *Coronavirus* factors and calves were grouped. Total leukocyte, granulocyte, lymphocyte, monocyte, erythrocyte and hematocrit parameters were measured in blood taken from vena jugularis. Total leukocyte, granulocyte and monocyte levels of the experimental groups were found to be significantly higher ($p < 0.05$) compared to the control group. There was no difference between control and experimental groups in terms of lymphocyte, erythrocyte and hematocrit levels. It was determined that the differences were insignificant between the calves in the sub-experimental groups among themselves and with the control group ($p > 0.05$). As a result, it was seen that hemogram parameters were important in calves with diarrhea, but did not differ according to etiological factors. It was concluded that these changes did not alter since they may be affected by other factors such as the type and number of etiological factors, the animal's condition, the severity/duration of the diseases. It was seen that more studies on the subject and environmental factors should be studied.

Keywords: Neonatal diarrhea, Etiology, Hemogram parameters.

*Corresponding author : Türker ATCALI
Geliş tarihi / Received: 09.11.2020

e-mail : tatcali@mehmetakif.edu.tr
Kabul tarihi / Accepted: 01.12.2020

Giriş

Dünya çapında sığırcılığın önemli problemlerinden biri de verimlilikle ekonomik kayba neden olan buzağı ölümleri olduğundan (Uhde ve ark., 2008) hayvanların sağlığını korumak ve verimliliği arttırmak için buzağı ölümlerinin kontrol altına

alınması çok önemlidir (Uetake, 2013). İshal yenidoğan buzağuların en ciddi sorunlardan biridir (Uhde ve ark., 2008). Çünkü neonatal dönem, buzağularda fizyolojik fonksiyonların geliştiği, doğum sonrası hayata adapte olduğu çok kritik bir zamandır (Smith, 2015; Constable ve ark., 2017). Bu dönemde görülen ishal tabloları buzağuların

bilhassa agamaglobulinemik doğmaları, vücut sıvılarının relatif olarak fazla olmasına rağmen, regülasyon mekanizmaları ve kompenzasyon yeteneğinin sınırlılığı nedeniyle sıvı-elektrolit kayıplarının hızlı gelişmesi ile ilişkilidir (Hartmann, 1995; Aydoğdu ve Güzelbekteş, 2018a).

Neonatal buzağı ishalleri; karmaşık bir etiyojiye sahip olan (Bendali ve ark., 1999) enfeksiyöz ajanlar ve nonenfeksiyöz faktörlerden (konakçı faktörü, yönetimsel, besinsel ve çevresel faktörler vb.) kaynaklanan multifaktöriyel bir hastalık olup (Blanchard, 2012) en önemli nedenini gastrointestinal sistemin bakteriyel (*E. coli*, *Cl. perfringens* vb.), viral (*Rotavirus*, *Coronavirus* vb.), protozoer (*Cryptosporidium parvum*) (Kaske ve Kunz, 2003) ve mikotik (*Candida spp.*) enfeksiyonları oluşturmaktadır (Güzelbekteş ve ark., 2007; Aydoğdu ve ark., 2018b). Olguların bazılarında tek bir etken yer alırken bazı olgularda birden fazla etken rol oynayabilmektedir (Blanchard, 2012; Şen ve ark., 2013; Aydoğdu ve ark., 2018c).

İshal, neonatal buzağılardaki morbidite ve mortalitenin en yaygın nedenlerinden biri olup (Aygün ve Yıldız, 2018; Yıldız ve ark., 2018) buradaki ekonomik kayıplar; tedavi masrafları, buzağuların büyüme ve performansları üzerindeki olumsuz etkileri ile ölümden meydana gelmektedir (Aydoğdu ve ark., 2018c; Aydoğdu ve ark., 2019). İshalin neden olduğu ekonomik kaybın diğer tüm buzağı hastalıklarından ileri gelen kayıplardan fazla olduğu şeklindeki bildirimler (Staufenbiel, 2002) sorunun boyutlarını ortaya koymakta, yapılan çalışmalarda süttan kesilme döneminden önceki buzağı ölümlerinin %75'inin ishal kaynaklı olduğu, (Uhde ve ark., 2008) hatta şiddetli enfekte sürülerde ölüm oranının %100'e çıkabildiği ifade edilmektedir (Morris ve ark., 2011). Bu anlamda buzağılarda ishale neden olan sebeplerin hızla belirlenmesi ve uygun tedavilerin seçilmesinin neonatal dönemde gerçekleşen kayıpları hafifleteceği belirtilmiştir (Kalinbacak, 2003). Ancak tanı metodları içerisinde geleneksel yöntemler dezavantajlı olup uzun sürmekte, tecrübeli eleman ve özel laboratuvar malzemelerine gereksinim duymaktadır (Boynukara ve ark., 2000). Son yıllarda, buzağı ishallerine neden olan başlıca

etkenlere yönelik hızlı teşhise olanak sağlayan bazı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan biri de immunokromatografik dışkı test kitleridir. Bu test kitlerinin yüksek duyarlılığa sahip olması, laboratuvar ortamı gerekmeksizin kısa sürede, kolayca ve her ortamda yapılabilmesi Veteriner Hekimlik alanında büyük avantaj oluşturmakta ayrıca daha doğru bir tedavi yaklaşımı olan etken spesifik tedavilerin yapılmasına olanak sağlamaktadır (Klein ve ark., 2009). Bunun yanında hematolojik yönden tam kan sayımı da hekimlerin klinik muayeneden sonra en önemli yardımcılarından biri olup (Jones ve Alison, 2007) birçok hastalık hakkında önemli bilgiler sunmakta, tanı ve prognozu değerlendirme açısından oldukça faydalı olmaktadır (Panousis ve ark., 2018).

Neonatal buzağılarda da özellikle ishal tabloları, hematolojik parametrelerde önemli değişiklikler meydana getirebilmektedir (Uzlu ve ark., 2010). Farklı tip enfeksiyonlara bağlı gelişen enterit tablolarının lökositlerin sayı ve farklılaşmasında değişim yapabildiği, özellikle etiyolojik faktörlerin etkisinde gerçekleşen ishal durumlarının buradaki değişimleri hemogram verilerine yansıtılabildiği (Taylor, 2000) ve ishallerde lökosit sayısında şekillenen değişimlerin bir örnek olmadığı ifade edilmektedir. İshal tablolarında plazma volümünde azalma, hemokonsantrasyona bağlı olarak hematokrit değerinde (Hct, günlük %5) yükselme meydana gelebilmektedir (Constable ve ark., 2001; Kaske ve Kunz, 2003). Bunun yanında hematokrit değerinde viral ve bakteriyel kökenli ishallerde artış gelişebileceği, paraziter kaynaklı ishallerdeyse anemi şekillenmesine bağlı hematokrit değerinin normal sınırlarda kalabileceği ifade edilmiştir (Hafez, 1974). İncelenen bu literatür bilgileri ışığında söz konusu çalışma tasarlanarak neonatal dönemdeki ishallerde buzağılarda dışkı immunokromatografik test kitleriyle belirlenen farklı etiyolojik faktörlerin hemogram parametreleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Hayvan Materyali

Bu araştırmanın materyalini Burdur yöresindeki süt sığırları işletmelerinde bulunan ve Burdur MAE

Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kliniğine getirilen 1-20 gün yaş aralığında toplam 62 neonatal buzağı (28 simental, 34 holstein) oluşturdu. Bu hayvanlardan enteritli 44 buzağı deney grubunu (dişi n:18, erkek n:26), sağlıklı 18 buzağı kontrol grubunu (n:11, erkek n:7) oluşturdu.

Çalışmaya dahil edilen buzağular dışkıda immunokromatografik test kitleriyle tespit edilen etiyolojik etkenler açısından 6 gruba ayrıldı. Gruplar oluşturulurken istatistiksel anlam ifade etmesi açısından her bir grupta örnek sayısı 3 ve üzeri olan hayvanlar değerlendirildi. Bu anlamda tekli etiyolojik faktöre sahip olan 1 adet *E. coli* enfeksiyonlu ve 2 adet *Rotavirus* enfeksiyonlu buzağı gruplara katılmadı (Şekil 1). Klinik ve laboratuvar muayeneleri yönünden sağlıklı olduğu belirlenen kontrol grubu buzağular 1. grup (n:18), etken tespit edilmeyen ishallerli buzağular 2.grup (n:10), birden fazla etken tespit edilen buzağular 3.grup (n:18), *Cryptosporidium* tespit edilen buzağular 4.grup (n:7), *Cl. perfringens* tespit edilen buzağular 5.grup (n:3), *Coronavirus* tespit edilen buzağular 6.grup (n:3) olarak tanımlandı. Araştırmanın materyalini oluşturan buzağuların sahiplerine onam formları imzalatılarak kayıt altına alındı. Belirlenen etkenlere yönelik Veteriner hekimlere tedavi protokolleri konusunda önerilerde bulunuldu. Araştırma için Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'ndan 12.09.2018 tarih ve 410 sayılı kararla çalışma izni alındı.

Klinik Muayeneler

Çalışmaya dahil edilen buzağuların anemnez bilgileri (cinsiyetleri, yaşı, ishal olup olmadığı, ishalse ne kadar süredir ishal olduğu vb.) alınarak klinik muayeneleri gerçekleştirildi.

Hematolojik Analizler

İncelenen buzağuların *vena jugularis'*inden uygun şekilde 3 ml K₃EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinin total lökosit, granülosit, lenfosit, monosit, eritrosit ve hematokrit parametreleri kan sayım cihazında (Abacus Junior Vet Diatron MI, Macaristan) ölçüldü.

Dışkı Analizleri

Hayvan materyalini oluşturan kontrol ve deney grubu buzağuların rektumundan alınan taze dışkı örneklerine bekletilmeden prosedürüne uygun şekilde hızlı immunokromatografik test kitleriyle (Biox Diagnostic B/S/G Diarrhea 5, C.No: BIO K396, Belçika) bakıldı. *Cryptosporidium*, *Clostridium perfringens*, *E. coli* (K 99-F5), *Rotavirus* ve *Coronavirus* olmak üzere 5 hastalığa yönelik etkenler 10 dakika içerisinde tespit edilerek sonuçlar kayıt altına alındı.

İstatistiksel analizler

Toplanan verilerden parametrik özellik gösteren hematolojik parametrelerinin tanımlayıcı istatistikleri, ayrıca ikiden fazla grup içeren veriler arasındaki farklılıkların ortaya konmasında One Way Anova (Post Hoc Multiple Comparison: Bonferroni) testi yapıldı. İkili gruplar arasındaki farkların ortaya konmasında İndependent-Samples T testi gerçekleştirildi. Gruplar arasında farkların ortaya konmasında p<0,05 düzeyi önem sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde SPSS 25.0 (Windows için, Inc, Chicago) programı kullanıldı.

Bulgular

Klinik Bulgular

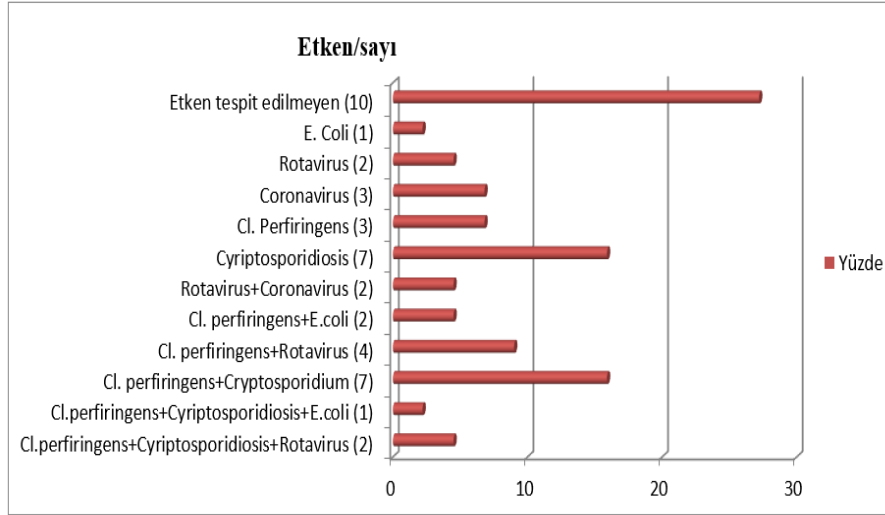
Deney grubu neonatal ishallerli buzağularda yaygın olarak görülen klinik bulguların; değişken derecelerde vücut ısısı, çevreye ilgi azalması/olmaması, kalp atım sayısında artış/azalış, göz küresinin orbitaya çökmesi, depresyon, emme refleksinin azalması/olmaması, deri elastikiyetinin azalması, kapıllar dolum zamanının uzaması, soluk mukoz membranlar, ekstremitelerde soğuma, solunum sayısında artış olduğu görüldü. İncelenen buzağuların 18'inde lateral, 5'inde sternal yatış belirlendi.

Dışkı Analiz Bulguları

Sunulan çalışmada deney grubu buzağulara yapılan hızlı fekal immunokromatografik testler sonucu buzağuların 3'ünde sadece *Cl. perfringens*, 7'sinde sadece *Cryptosporidium*, 1'inde sadece *E. coli*, 2'sinde sadece *Rotavirus* ve 3'ünde sadece *Coronavirus* belirlendi. İki etken tespit edilen buzağuların 7'sinde *Cl. perfringens* + *Cryptosporidium*, 2'sinde *Cl.*

perfringens + *E. coli*, 4'ünde *Cl. perfringens* + *Rotavirus*, 2'sinde *Rotavirus* + *Coronavirus* belirlendi. Üç etken tespit edilen buzağuların 1'inde *Cl. perfringens* + *Cryptosporidium* + *E. coli*, 2'sinde *Cl. perfringens* +

Cryptosporidium + *Rotavirus* birlikte görüldü. Ayrıca 10 buzağıda 5 hastalık yönünden herhangi bir etkene rastlanmadı (Şekil 1).



Şekil 1. Deney grubu buzağuların dışısında tespit edilen etkenlerin sayı ve yüzdeleri.

Hematolojik Bulgular

Kontrol ve deney grubu buzağuların hemogram bulguları karşılaştırıldığında; deney grubu buzağuların total lökosit, granülosit ve monosit düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol grubuna göre yüksek ($p < 0,05$) olduğu belirlendi. Lenfosit, eritrosit ve hematokrit düzeyleri yönünden kontrol ve deney grubu buzağular arasında istatistiksel bir farklılık belirlenmedi (Tablo 1).

Yapılan çalışmada alt deney gruplarındaki buzağuların kendi aralarında ve kontrol grubuyla aralarında hemogram bulgularından total lökosit, granülosit, lenfosit, monosit, eritrosit ve hematokrit düzeyleri yönünden farkların anlamsız olduğu ($p > 0,05$) belirlendi (Tablo 2).

Tablo 1. Kontrol ve deney grubu buzağuların hemogram bulgularının karşılaştırılması (Mean±StDev).

Parametre	Kontrol Grubu (n:18)	Deney Grubu (n:44)	p değeri
Total lökosit ($\times 10^9/l$)	8,56±1,99	11,54±6,77	0,010
Granülosit ($\times 10^9/l$)	3,27±1,44	5,95±5,18	0,003
Lenfosit ($\times 10^9/l$)	5,33±1,22	5,40±2,20	0,863
Monosit ($\times 10^9/l$)	0,14±0,16	0,37±0,39	0,003
Eritrosit ($\times 10^{12/l}$)	7,58±0,62	8,10±1,69	0,087
Hematokrit (%)	28,81±3,74	30,66±8,15	0,577

Tablo 2. Enfeksiyöz etkenlere göre kontrol ve deney grubu buzağuların hemogram bulgularının karşılaştırılması (Mean±StDev).

Parametre	1.Grup (n:18)	2.Grup (n:10)	3.Grup (n:18)	4.Grup (n:7)	5.Grup (n:3)	6.Grup (n:3)	p Değeri
Total	8,56±1,99 ^a	13,94±4,48 ^a	10,39±6,75 ^a	15,23±9,67 ^a	7,51±2,04 ^a	10,53±7,72 ^a	0,064
Lökosit (x ^{^9} /l)							
Granülosit (x ^{^9} /l)	3,27±1,44 ^a	7,48±3,49 ^a	4,99±5,23 ^a	8,59±8,09 ^a	3,18±1,44 ^a	5,14±4,39 ^a	0,074
Lenfosit (x ^{^9} /l)	5,33±1,22 ^a	5,81±2,48 ^a	5,28±2,11 ^a	6,58±2,24 ^a	4,26±0,65 ^a	4,96±3,17 ^a	0,544
Monosit (x ^{^9} /l)	0,14±0,16 ^a	0,52±0,50 ^a	0,39±0,38 ^a	0,23±0,23 ^a	0,06±0,01 ^a	0,43±0,49 ^a	0,057
Eritrosit (x ^{^12} /l)	7,58±0,62 ^a	8,63±2,29 ^a	8,04±1,45 ^a	7,22±1,17 ^a	7,51±0,80 ^a	7,86±1,75 ^a	0,363
Hematokrit (%)	29,81±3,74 ^a	32,21±9,30 ^a	30,64±8,61 ^a	29,35±6,83 ^a	25,91±2,70 ^a	27,54±10,68 ^a	0,787

*Aynı satırda aynı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel yönden farklılık yoktur.

1.Grup: Kontrol Grubu, 2.Grup: Etken tespit edilmeyen ishali buzağular, 3.Grup: Birden fazla etken tespit edilen buzağular, 4.Grup: Cryptosporidium tespit edilen buzağular, 5.Grup: Cl. perfringens tespit edilen buzağular, 6.Grup: Coronavirus tespit edilen buzağular.

Yapılan çalışmada ishali 2. gruptaki 7 buzağıda, 3. gruptaki 4 buzağıda, 4. gruptaki 3 buzağıda, 6. gruptaki 2 buzağıda lökositöz belirlenirken, 3. ve 6. gruptaki 1'er buzağıda buzağıda lökopeni belirlendi. Bunun yanında 2. gruptaki 2 buzağıda, 3. ve 4. gruptaki 3'er buzağıda, 6. gruptaki 1 buzağıda lenfositöz görülürken, 3. gruptaki 2 buzağıda, 6. gruptaki 1 buzağıda lenfopeni tespit edildi.

Tartışma

Buzağı yetiştiriciliği için neonatal hastalıklar ciddi bir problem teşkil etmektedir. Bu hastalıkların başında gelen (Constable ve ark., 2017) ishal morbidite ve mortalitenin en yaygın nedenidir (Başoğlu ve ark., 2014). Buzağı ishalleri; enfeksiyöz ajanlar ve nonenfeksiyöz faktörlerden (konakçı faktörü, yönetimsel, besinsel ve çevresel faktörler vb.) kaynaklanan multifaktöriyel bir hastalıktır. Olguların bazılarında tek bir etken yer alırken bazı olgularda ise birden fazla etken rol oynayabilmektedir (Blanchard, 2012). İshale neden olan sebeplerin hızla belirlenmesi ve uygun tedavilerin seçilmesinin, bu dönemde gerçekleşen kayıpları hafifleteceği bildirilmektedir (Kalinbacak, 2003). Son yıllarda, buzağı ishallerine neden olan başlıca etkenlere yönelik hızlıca teşhise olanak sağlayan immunokromatografik test kitleri geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. (Klein ve ark., 2009; Kaya ve Coşkun, 2018; Kuliğ ve Coşkun,

2019). Sunulan çalışmada neonatal buzağılarda literatürlere uyumlu şekilde (Kaske ve Kunz, 2003; Lorenz ve ark., 2011) ishal etkenlerinin çoğunlukla *E. coli*, *Cl. perfringens*, *Coronavirus*, *Rotavirus* ve *Cryptosporidium* türlerinden oluştuğu yine bazı olgularda tek bazılarında birden fazla etken bulunduğu (Blanchard, 2012) tespit edildi.

Sistemik/lokal enfeksiyonlarla karakterize olan ishal tabloları total lökosit sayısı ve lökosit farklılaşmasında değişim yapabilir. Bilhassa etiyojik faktörlerin etkisinde şekillenen ishal tablosu bu değişimleri hematolojik verilere yansıtılmaktadır (Taylor, 2000). Yapılan çalışmalarda sığırlarda genel olarak lökopeninin viral enfeksiyonlar, dolaşım şoku, perakut inflamasyon, sitotoksik maddeler, hematopoetik kök hücre bozuklukları ve kemik iliği atrofisi ile bağlantılı olarak gözlemlendiği, panlökopeni ise, bazı viral hastalıklarda (Mukozal hastalık, enfeksiyöz sığır rinotrakeiti), riketsiyöz ve bakteriyel septisemi durumlarında görüldüğü bildirilmiştir (Roland ve ark., 2014). Buna karşın stresle ilişkili olarak (Seifi ve ark., 2006), enterite bağlı yangı sonucu ve ishal tablosunun şiddetine göre total lökosit sayısının belirgin düzeyde artabileceği ifade edilmiştir (Şentürk, 2001). Yine granülosit düzeylerinin enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak ishali buzağılarda arttığı (Güneş ve ark., 2004), total lökosit ve granülosit düzeylerindeki yükselişin

organizmanın enfeksiyöz ajanlara karşı savunma mekanizmasının yanı sıra dehidrasyona bağlı hemokonsantrasyondan da kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Brar, 2015). Monosit sayısı sığırlarda değişkendir ve bu nedenle belirli bir hastalık için güvenli bir gösterge değildir. Monositoz tablosu; akut stres sırasında, akut ve kronik enfeksiyonların iyileşme aşamasında, hemoliz, kanama, eksüdatif inflamasyon, nekroz, ülserasyon ve kortikosteroid tedavisinde gözlemlenirken monositopeni; endotoksemi, viremi ve inflamasyon ile ilişkili şekilde görülebilir ancak şimdiye kadar çok fazla klinik önemi olduğu kanıtlanmamıştır (Roland ve ark., 2014). Sunulan çalışmada deney grubu buzağılarda total lökosit, granülosit ve monosit düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek ($p < 0,05$) bulunmasının (Tablo 1) inflamatorik reaksiyonlarla, ishal tablosunun şiddetiyle (Şentürk, 2001), stresle (Seifi ve ark., 2006) ve hemokonsantrasyonla (Brar, 2015) ilişkili olabileceği değerlendirildi. Bunun yanında buzağılarda doğumdan sonraki ilk üç ayda lökosit düzeylerinin yetişkin referans aralıklarda olduğu ve hayvandan hayvana değişen bireysel farklılıklar meydana gelebileceği belirtilmektedir (Mohri ve ark., 2007). Sunulan çalışmada da benzer şekilde kontrol grubu buzağılara ait lökosit değerleri yetişkin referans aralıkları içinde olduğu belirlendi. Sığırlarda lenfositoz tablosu; enfeksiyöz hastalıkların iyileşme aşamasında, enfeksiyöz ajanlara bağlı kronik antijenik stimülasyon, neoplazi ve hipoadrenokortisizm sırasında, hepatit, peritonit, perikardit, nefrit, mastit veya bronkopnömoni gibi kronik plürent hastalıklar esnasında görülürken lenfositopeni; akut stres, viral veya bakteriyel enfeksiyon, immun sistem baskılanması, kronik böbrek yetmezliği ve kortikosteroid uygulamalarında meydana gelebilmektedir. Sunulan çalışmada deney grubu neonatal ishalleri buzağuların kontrol grubuna kıyasla lenfosit düzeyleri yönünden aralarında anlamlı farklılık bulunmadığı tespit edildi. Ayrıca alt deney gruplarındaki buzağuların kendi aralarında ve kontrol grubuyla aralarında hematolojik parametrelerden total lökosit, granülosit, lenfosit, monosit, eritrosit ve hematokrit değerinde istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı

saptandı (Tablo 2). Farkların anlamlı çıkmamasının; etiyolojik farklılıklar, hastalığın süresi, yangının şiddeti, hayvan sayısının az olması ve hayvanlardan bir kısmında ishallerin erken döneminde bulunmasından kaynaklanabileceği değerlendirildi. Ayrıca yapılan çalışmada alt deney gruplarındaki birçok buzağıda farklı derecede lökopeni, lökositoz, lenfopeni, lenfositoz gibi hematolojik değişimler olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlam tespit edilmeyen hemogram değerleri dikkate alındığında, bu parametrelerin en düşük ve en yüksek değerlerinin çok geniş bir skalada yer aldığından ishalleri buzağuların hemogram ortalamalarında kontrol grubuyla benzer bulguların ortaya çıktığı gözlemlendi. Bu kapsamda yapılan çalışmalarda da buzağuların hemogram değerlerinin bazı durumlarda artış bazısında ise azalış göstermesinin yapılan istatistiksel analizlerde anlam derecesini düşürdüğü bildirilmiştir (Beydilli, 2018; Beydilli ve Gökçe, 2019).

İshale bağlı gelişen hemokonsantrasyona (Constable ve ark., 2001; Kaske ve Kunz, 2003) ayrıca viral ve bakteriyel kökenli ishallerle bağlı hematokrit değerinin yükseldiği bildirilmiştir (Hafez, 1974). Buna karşın neonatal buzağılarda doğum öncesi oluşan demir eksikliğine bağlı hematokrit değerinin alt sınıra yakın (%15,8) veya düşük düzeyde (%6,9) olabileceği, bu anlamda serum demir konsantrasyonu ile hematokrit değer arasında doğrudan bir korelasyon olduğu (Tennant ve ark., 1975) ayrıca alimenter ve paraziter enteritli buzağılarda değişimlerin istatistiksel yönden anlamsız olabileceği de belirtilmektedir (Hafez, 1974). Sunulan çalışmada deney grubu buzağılarda hematokrit değerinin literatürlere uyumlu (Hafez, 1974; Kraft ve Dürr, 1997) şekilde kontrol grubuna göre yüksek olduğu fakat bu artışın istatistiksel olarak önem arz etmediği tespit edildi (Tablo 1). Artışın anlamlı olmamasının alimenter faktörlerden, ishallerin etiyolojisine bağlı farklılıklardan (Hafez, 1984) ayrıca hayvanlarda bulunabilecek demir eksikliğinden (Tennant ve ark., 1975) ve gün içinde hematokrit değerindeki değişimden (Öcal ve ark., 2006) kaynaklanabileceği öngörüldü.

Yapılan çalışmalarda sağlıklı buzağlarda eritrosit düzeylerinin doğumdan itibaren 120. güne kadar normal referans aralıklarda olduğu (Zanker ve ark., 2001) ayrıca eritrosit sayısındaki değişim yönünden ishali buzağlarla sağlıklılar arasında istatistiksel yönden farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (Albayrak, 2014). Sunulan çalışmada eritrosit düzeyleri kontrol ve deney grubu buzağlarda araştırmacıların bildirdiğiyle uyumlu şekilde (Zanker ve ark., 2001) normal referans aralıklarda bulundu ayrıca gruplar arasındaki farkın benzer şekilde (Albayrak, 2014) önemsiz olduğu görüldü (Tablo 1).

Yapılan bir çalışmada *E. coli* (K99), *Rotavirus*, *Coronavirüs* ve *Cryptosporidium* etkenleri yönünden monoenfekte neonatal buzağların total lökosit, eritrosit, hematokrit düzeyleri incelenmiş ve total lökosit düzeylerinin *E. coli* enfekte grup buzağlarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu, hematokrit düzeylerinin *E. coli*, *Rotavirus* ve *Coronavirus* monoenfekte gruplardaki buzağlarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine bu çalışmada etiyolojik ajanların farklı derecelerde bağırsak hasarına neden olduğunu ve *E. coli* ishali olan buzağlarda gözlenen hasarın enterit ve sepsis gelişimiyle ilişkili olarak *Rotavirus*, *Coronavirus* ile *Cryptosporidium* monoenfekte buzağlardakinden daha şiddetli olduğu ifade edilmiştir (Ok ve ark., 2009; Ok ve ark., 2019). Sunulan çalışmada yapılan bu araştırmaya benzer şekilde *Coronavirus* ve *Cryptosporidium* monoenfekte gruplarda total lökosit, eritrosit, hematokrit düzeyleri arasında farklılık belirlenmedi (Tablo 2). Monoenfekte *E. coli*'li buzağlar için yeterli örnek sayısı (n:3) oluşmadığından değerlendirme yapılamadı.

Sonuç olarak hemogram parametrelerinin ishali buzağlarda önem arz ettiği ancak etiyolojik faktöre göre farklılık göstermediği görüldü. Bu değişikliklerin etiyolojik faktörlerin tipi (enfeksiyöz/nonenfeksiyöz), sayısı (bir/birçok etmen) hayvanın durumu (beslenme, bağışıklık), tablonun şiddeti/süresi gibi birçok faktörden etkilenebileceğinden dolayı değişiklik göstermediği kanısına varıldı. Konuyla ilgili daha fazla hayvan üzerinde ve çevresel faktörlerin kontrol altına alındığı çalışmaların yapılması gerektiği görüldü.

Teşekkür

Bu çalışma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Ofisi'nden (Doktora Tezi Proje No. 0526-DR-18) alınan hibe ile desteklenen tez çalışmasından üretilmiştir.

Kaynaklar

Albayrak, H., 2014. İshali buzağlarda serum haptoglobin konsantrasyonunun belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

Aydoğdu, U., Güzelbekteş, H., 2018a. Effect of colostrum composition on passive calf immunity in primiparous and multiparous dairy cows. Veterinarni Medicina 63, 1-11.

Aydoğdu, U., Işık, N., Ekici, Ö.D., Yıldız, R., Şen, İ., Coşkun, A., 2018b. Comparison of the effectiveness of halofuginone lactate and paromomycin in the treatment of calves naturally infected with *Cryptosporidium parvum*. Acta Scientiae Veterinariae 46, 1-9.

Aydoğdu, U., Gülersoy, E., Şen, İ., 2018c. Buzağı ishalleri ve oral sıvı takviyeleri. Türkiye Klinikleri Animal Nutrition and Nutritional Diseases-Special Topics 4, 56-64.

Aydoğdu, U., Yıldız, R., Güzelbekteş, H., Coşkun, A., Şen, İ., 2019. Yenidoğan ishali buzağlarda mortalite indikatörü olarak kan laktat, glikoz, total protein ve gama glutamil transferaz seviyeleri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 33, 201-206.

Aygün, O., Yıldız, R., 2018. Evaluation of thrombomodulin and pentraxin-3 as diagnostic biomarkers in calves with sepsis. Veterinarni medicina 63, 313-320.

Başoğlu, A., Başpınar, N., Tenori, L., Hu, X., Yıldız, R., 2014. NMR based metabolomics evaluation in neonatal calves with acute diarrhea and suspected sepsis: a new approach for biomarkers. Metabolomics 4, 1-6.

Bendali, F., Bichet, H., Schelcher, F., Sana, M., 1999. Pattern of diarrhoe in newborn calves in South-West France. Veterinary Research 30, 61-74.

Beydilli, Y., 2018. Sepsisli neonatal buzağlarda kalp yetmezliğinin belirlenmesinde plasma cardiac troponin-1 (CTN-I), n-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP) ve histon h3 düzeylerinin diagnostik ve prognostik önemi. Yüksek Lisans Tezi, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur.

Beydilli, Y., Gökçe H.İ., 2019. Sepsisli neonatal buzağlarda bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 7, 55-67.

Blanchard, P.C., 2012. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice 28, 443-464.

Boynukara, B., Solmaz, H., Akgül, Y., Aksakal, A., 2000. Yeni doğan buzağların dışkılarında *E.coli* ve *E.coli* K99'un varlığı ile neonatal buzağı ishallerinin önlenmesinde oral spektinomisin (pentahidrat dihidroklorit)'in etkisi. Bülendif Veteriner Bülten, 14, 2-5.

Brar, T.K., Singh, K.D., Kumar, A., 2015. Effect of different phases of menstrual cycle on heart rate variability (HRV). Journal of Clinical and Diagnostic Research 9, 1-4.

Constable, P.D., Thomas, E., Boisrame, B., 2001. Comparison of two oral electrolyte solutions for the treatment of dehydrated calves with experimentally-induced diarrhoea. The Veterinary Journal 162,129-140.

Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H., Grünberg, W., 2017. Veterinary medicine a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. Elsevier, St. Louis Missouri.

Güneş, V., Ünver, A., Çitil, M., Erdoğan, H.M., 2004. Kars yöresi neonatal buzağı ishallerinde *Escherichia coli* serotip O-157 ve *Clostridium perfringens* tip A toksini. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 10, 41-45.

Güzelbekteş, H., Coşkun, A., Şen, İ., 2007. Relationship between the degree of dehydration and the balance of acid-based changes in dehydrated calves with diarrhoea. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 51, 83-87.

Hafez, A.M., 1974. Untersuchungen zum Verhalten einiger Elektrolyte in Pansensaft, Blutserum und Harn sowie des roten und weissen Blutbildes bei gesunden und enteritüskranken Rindern im Hinblick auf therapeutische Schlussfolgerungen. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, Deutschland.

Hartmann, H., Reder, S., 1995. Einfluss von dehydratationen auf funktionelle parameter des flüssigkeitshaushaltes sowie wirksamkeit einer rehydratation mit kristalliner oder kolloidaler infusionslösung bei kälbern. Tierarztl Prax 23, 342-450.

Jones, M.L., Alison, R.W., 2007. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. Clinics of North America Food Animal Practice 23, 377-402.

Kalınbacak, A., 2003. İshalli Buzağların Sıvı Sağaltımında Hipertonik Salin-Dextran ve Oral Elektrolit Solüsyonunun Kullanımı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 50, 113-118.

Kaske, M., Kunz, H.J., 2003. Handbuch Durchfallerkrankungen der Kalber. Kamlage Verlag, Auflage Stuttgart, pp: 15-140.

Kaya, U., Coşkun, A., 2018. Tokat Bölgesindeki Neonatal Buzağı İshallerinin Etiyolojisinin Belirlenmesi. Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences 8, 75-80.

Klein, D., Kern, A., Lapan, G., Benetka, V., Möstl, K., Hassl, A., Baumgartner, W., 2009. Evaluation of rapid assays for the detection of bovine *Coronavirus*, *Rotavirus* a and *Cryptosporidium parvum* in faecal samples of calves. Veterinary Journal 182, 484-486.

Kraft, W., Dürr, U.M., 1997. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Schattauer Verlag, Stuttgart und New York.

Kulig, C.C., Coşkun, A., 2019. Sivas ve ilçelerindeki neonatal ishallerde *E. coli*, *Cryptosporidium*, *Clostridium perfringens*, *Rotavirus* ve *Coronavirus* prevalansı. Turkish Veterinary Journal 1, 69-73.

Lorenz, I., Mee, J.F., Earley, B., More, S.J., 2011. Calf health from birth to weaning I. General aspects of disease prevention. Irish Veterinary Journal 64, 1-8.

Mohri, M., Sharifi, K., Eidi, S., 2007. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. Research in Veterinary Science 83, 30-39.

Morris, W.E., Venzano, A.J., Elizondo, A., Vilte, D.A., Mercado, E.C., Miyakawa, M.E.F., 2011. Necrotic enteritis in young calves. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 23, 254-259.

Ok, M., Güler, L., Turgut, K., 2009. The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. Zoonoses Public Health 56, 94-101.

Ok, M., Yıldız, R., Hatipoğlu, F., Başpınar, N., İder, M., Üney, K., Ertürk, A., Durgut, M.K., Terzi, F., 2019. Use of intestine-related biomarkers for detecting intestinal epithelial damage in neonatal calves with diarrhea. American Journal of Veterinary Research 81, 139-146.

Öcal, N., Duru, S.Y., Yağcı, B.B., Gazyağcı, S., 2006. İshalli buzağlarda asit-baz dengesi bozukluklarının saha şartlarında tanı ve sağaltımı. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 12, 175-183.

Panousis, N., Siachos, N., Kitkas, G., Kalaitzakis, E., Kritsepi-Konstantinou, M., Valergakis, G.E., 2018. Hematology reference intervals for neonatal holstein calves. *Research in Veterinary Science* 118, 1-10.

Roland, L., Drillich, M., Iwersen, M., 2014. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1, 1-7.

Seifi, H.A., Mohri, M., Shoorei, E., Farzaneh, N., 2006. Using haematological and serum biochemical findings as prognostic indicators in calf diarrhoea. *Comparative Clinical Pathology* 15, 143-147.

Smith, B.P., 2015. *Large Animal Internal Medicine.* Elsevier Press, Missouri, p: 221-339.

Staufenbiel, R., 2002. Eisenmangel, In: Dirksen G, Gründer HD, Stöber M (Eds.), *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, Verlag Parey, Berlin, pp: 226-230.

Şen, İ., Güzelbekteş, H., Yıldız, R., 2013. Neonatal buzağı ishalleri: patofizyoloji, epidemiyoloji, klinik, tedavi ve koruma. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences* 4, 71-78.

Şentürk, S., 2001. Buzağı ishallerinde sıvı tedavisi. *Journal of Faculty Veterinary Medicine* 20, 161-167.

Taylor, J.A., 2000. Leukocyte Responses in Ruminants. In: Bernart FF, Joseph GZ, Nemi CJ. (Eds), *Schalm's Veterinary Hematology.* Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp: 391-401.

Tennant, B., Harrold, D., Reina-Guerra, M., Kaneko, J.J., 1975. Hematology of the neonatal calf. III, Frequency of congenital iron deficiency anemia. *The Cornell Veterinarian* 65, 543-556.

Uetake, K., 2013. Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Animal Science Journal* 84, 101-105.

Uhde, F.L., Kaufmann, T., Sager, H., Albini, S., Zanoni, R., Schelling, E., Meylan, M., 2008. Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *The Veterinary record* 163, 362-366.

Uzlu, E., Karapehlivan, M., Çitil, M., Gökçe, E., Erdoğan, H.M., 2010. İshal semptomu belirlenen buzağılarda serum, sialik asit ile bazı biyokimyasal parametrelerin araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 21, 83-86.

Yıldız, R., Beslek, M., Beydilli, Y., Özçelik, M.M., Biçici, Ö., 2018. Evaluation of platelet activating factor in neonatal calves with sepsis. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 89, 66-73.

Zanker, I.A., Hammon, H.M., Blum, J.W., 2001. Delayed feeding of first colostrums: are there prolonged effects on haematological, metabolic and endocrine parameters and on growth performance in calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 85, 53-66.

Antalya İli ve Çevresinde Sığırcılık İşletmelerinde Bovine Viral Diyare Virus (BVDV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması

Serological Research of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Infection in Cattle Farms in Antalya Province

Ayşen DEMİRSOY^{1*} , Nuri MAMAK² 

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur, Türkiye

²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

Öz: Bu çalışma Antalya İli ve çevresindeki büyükbaş hayvan işletmelerinde Bovine Viral Diyare Virus (BVDV) enfeksiyonunun seroprevalansının araştırılması amacıyla yapıldı. Çalışmada 94 işletmede bulunan 6 ay -15 yaşlı 470 adet sığırdan alınan kan örnekleri kullanıldı. Hayvanlara ait kan örnekleri V. Jugularis'ten 10 ml'lik steril vakumlu tüplere alındı. Tüpler 2000 devirde 10 dk. santrifüj edildi. Elde edilen serumlar test yapıncaya kadar -25 °C'de derin dondurucuda saklandı. Serumlarda BVDV'una karşı antikor (Ab) varlığını belirlemek için BVDV (Ab)-ELISA, BVDV antijen (Ag) varlığını belirlemek amacıyla BVDV (Ag)-ELISA test kitleri kullanıldı. İncelenen kan örneklerinden 322'si (%68, 51) seropozitif, 148'i (%31, 48) seronegatif, 13'ü (%2, 76) persiste enfekte olarak tespit edildi. Seropozitiflik oranının yaş grupları arasında istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$). Ayrıca yaş arttıkça seronegatifliğin azaldığı tespit edildi. Bu çalışma Antalya İli ve çevresinde BVD enfeksiyonunun seroprevalansını tespiti amacıyla gerçekleştirilen ilk çalışma özelliği taşımaktadır. Sonuç olarak; BVDV enfeksiyonu seropozitiflik ve PI oranı göz önüne alındığında, enfeksiyonun Antalya İli ve çevresinde yaygın olduğu görülmektedir. Bu sebepten dolayı hastalığa karşı gerekli kontrol ve koruma önlemlerinin alınması bölge ve ülke ekonomisi için önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antalya, Bovine Viral Diyare Virus (BVDV), Sığır, ELISA, Seroprevalans.

Abstract: The aim of the study was to research seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) infection in cattle farms in Antalya province. In the study, blood samples taken among 470 cattle aged between 6 months and 15 years from 94 farms were used. Blood samples of the animals were collected from V. Jugularis in 10 ml sterile vacuum tubes. Tubes were centrifuged 10 min. at 2000 rpm. The serums were stored in a deep freezer at -25 °C until testing. BVDV (Ab)-ELISA and BVDV (Ag)-ELISA test kits were used to determine the presence of antibody (Ab) and antigen (Ag) respectively in the serums. Of these samples, 322 (68.51%) were seropositive, 148 (31.48%) were seronegative and 13 (2.76%) were persistent infected. Seropositivity rate was found to be statistically significant among age groups ($p < 0.05$). Also it is found that seronegativity decreased as age increased. The study has the feature of being the first study to determine the seroprevalence of BVDV infection in Antalya province. As a result; considering the BVDV infection seropositivity and PI rate, it is seen that the infection is widespread in Antalya province. For this reason, taking necessary control and protection measures against disease is important for the economy of the region and the country.

Keywords: Antalya, Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Cattle, ELISA, Seroprevalance.

*Corresponding author : Ayşen DEMİRSOY

e-mail : aysen.demirsoy@tarimorman.gov.tr

Geliş tarihi / Received: 24.06.2020

Kabul tarihi / Accepted: 07.12.2020

Giriş

Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) enfeksiyonu da dünyanın birçok yerinde görülen viral bir hastalıktır. Sığırcılık işletmelerinde önemli maddi kayıplara sebebiyet vermektedir (Ridpath, 2010; Van Regenmortel ve ark., 2000;

Xue, 2009). Enfeksiyondan etkilenen sığırlarda sindirim, solunum ve üreme organlarında doku bozukluklarına, bağışıklık sisteminin baskılanmasına, şiddetli diyare, mukozal hastalık (MD), gebe sığırlarda atık, yeni doğanlarda malformasyonlar, konjenital defektler ve yeni doğan ölümleri görülmektedir (Brodersen, 2014;

Greiser-Wilke, 2003; Kameyama ve ark., 2016; Rodning, 2010; Yıldırım ve Burgu, 2005).

Bovine viral diyare hastalığı her gruptaki sığırlarda birkaç gün devam eden ve subklinik seyreden bir rahatsızlıktır (Çabalar ve Karaoğlu, 1999; Frederick ve ark., 1999; Karaoğlu, 1998; Radostits ve Blood, 1989; Yıldırım ve Burgu, 2005). Klinik ve patolojik belirtiler etkilenen hayvanlarının yaşı ve gebelik hallerine göre değişmektedir (Cho ve Yoon, 2014; Everman, 2005). Önceden etkenle karşılaşmış ve etkene karşı antikor üretmiş hayvanlarda uzun süren direnç oluşur (Fredriksen, 1999). Sürüde önemli ölçüde süt veriminde azalma vardır. Enfeksiyonun gidişatı sırasında direnç düşüklüğü olduğundan özellikle genç sığırlarda solunum ve sindirim sistemine yerleşmiş fırsatçı enfeksiyonlar tespit edilebilir (Cho ve Yoon, 2014; Frederick ve ark., 1999). Hayvanlarda uyuşukluk, iştahsızlık, hafif göz ve burun akıntısı, ağızda lokal erozyonlar ve ülserler gözlemlenmektedir. Ateş, anoreksi, sulu diyare, rhinitis, dehidrasyon, aşırı salivasyon gibi belirtiler gösterir (Brodersen, 2014; Kameyama ve ark., 2016; Milli, 2000). Persiste enfekte hayvanlar virusa karşı antikor üretemezler, vücut sıvıları aracılığıyla sürekli olarak etrafa virus yayarlar. Bu yüzden diğer hayvanlar için enfeksiyon kaynağıdır (Lee ve ark., 2008; Passler ve ark., 2007; Yazıcı ve ark., 2012). Etkenin duyarlı hayvanlara persiste enfekte boğa spermalarıyla geçtiği hallerde, genellikle fark edilmeyen yavru ölümleri ve sürekli olmayan infertilite sorunları gözlenebilmektedir (Frederick ve ark., 1999; Otachel-Hawranek, 2004). Fötusun konjenital hastalığa maruz kalma yaşına bağlı çeşitli anormalliklere, fötusun ölümüne, mumyalaşması, klinik belirti göstermeksizin hayatları boyunca devam eden viral persistense veya etkeni elimine ederek bağışıklık oluşumuna neden olmaktadır (Fray ve ark., 1998; Fredriksen ve ark., 1999; Karaoğlu, 1998; Otachel-Hawranek, 2004). Virustan etkilenen buzağılarda ataksi, geniş tabanlı duruş, sendeleyerek yürüme, kalkmaya çalışırken geriye düşme, katarakt, mikroftalmi, optik nevritis, retinal dejenerasyon, timus hipoplazisi,

hipotrikoz, alopesi, sırtlan hastalığı, kıvrır kıvrır bukleli kıl örtüsü, alt çene kısılığı, gelişme geriliği, kemik gelişiminde dengesizlik şekillenmektedir (Radostits, 2006). Bu çalışmada, ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan araştırmalara göre yüksek seroprevalansa sahip olduğu anlaşılan BVDV hastalığının Antalya ili ve ilçelerindeki seroprevalansını belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Kan Örnekleri

Çalışma için Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 30.11.2016 tarih ve 247 sayılı kararı ile etik kurul izni alındı. Çalışma; Antalya ili ve çevresinde 94 adet farklı işletmeden 6 ay ile 6 yaş ve üzeri yaş aralığına da BVDV aşısı uygulanmamış sağlıklı görünüme sahip 470 tane sığır ile yürütüldü. Vena jugularis'ten 10 ml kan uygun şekilde alındı. Alınan kan örnekleri 2000 devirde 10 dk. santrifüj edildi ve serumlar test yapılana kadar -25 °C derin dondurucuda saklandı.

ELISA Testi

Toplanan serum örneklerindeki BVDV spesifik antikorları belirlemek için ticari olarak mevcut olan BVDV/ MD/ BDV P80 protein ELISA antikor test kiti kullanıldı (IDEXX). Kan serum örnekleri ve kitlerde kullanılan solüsyonlar oda sıcaklığında bir saat bekletildi.

BVDV (Ab) Testi

Serumlar BVDV 'ye karşı gelişen antikor varlığı yönünden indirekt ELISA (BVDV (Ab)-ELISA (IDEXX BVDV-Total Ab, Switzerland) ile incelendi.

BVDV (Ag) Testi

Elde edilen serum örnekleri BVDV antijen varlığı yönünden direkt ELISA (IDEXX, BVDV Ag test, Switzerland) ile incelendi.

İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, ırklar ve yaş grupları arasında Chi-Square (X²) testi ve ANOVA testi (Minitab 16 statistical software, USA) ve korrelasyon testi

(Minitab 16 statistical software, USA) ile istatistiksel analizler gerçekleştirildi. $p < 0.05$ 'in altındaki değerler istatistiksel açıdan önemli bulundu.

Tablo 1. Kan serumlarının serolojik olarak sayısal ve oransal dağılımı.

Serolojik Sonuç	Hayvan Sayısı	Oran (%)
Seropozitif	322	68,51
Seronegatif	148	31,48
Toplam	470	

Tablo 2. Antalya İli ve çevresinde kan örneği alınan yerlerin örnek sayıları, serolojik olarak sayıları ve oransal dağılımı.

Örnek Alınan Yerler	Seropozitif		Seronegatif		Toplam Örnek Sayısı
	Hayvan Sayısı	Oran (%)	Hayvan Sayısı	Oran (%)	
Merkez	28	60,86	18	39,13	46
Akseki	18	75	6	25	24
Aksu	44	72,13	17	27,86	61
Alanya	32	80	8	20	40
Demre	21	60	14	40	35
Döşemealtı	58	76,31	18	23,68	76
Elmalı	18	60	12	40	30
Kepez	30	69,76	13	30,23	43
Korkuteli	32	61,53	20	38,46	52
Manavgat	18	58,06	13	41,93	31
Serik	23	71,78	9	28,12	32
Toplam	322		148		470

Bulgular

ELISA Sonuçları

BVDV (Ab)-ELISA ve BVDV (Ag)- ELISA test kitleri kullanılarak, 470 adet sığırdan yapılan çalışmada 322 adet seropozitif (%68,51), 148 adet seronegatif (%31,48) sığır tespit edildi. 148 adet seronegatif sığırın 13'ünde (%2,76) antijen pozitif saptandı. Şüpheli hayvanlardan 45 gün sonra bu hayvanlardan tekrar kan numunesi alınarak antijen testi yapıldı ve bu hayvanlarda antijen yine pozitif bulundu. Bu hayvanlar PI olarak

değerlendirildi. Diğer odaklarda PI hayvan belirlenemedi. Kan örneklerinin, serolojik olarak sayısal ve oransal dağılımları Tablo 1 ve Tablo 2'de sunulmuştur. (Tablo 1 ve Tablo 2)

İlçeler bazında serolojik bulgulara bakıldığında; Akseki ilçesinde 6 (%25) tane seronegatif 18 (%75) tane seropozitif olarak tespit edildi. Aksu ilçesinde 44 (%72,13) tane seropozitif, 17 (%27,86) tane seronegatif bulundu. Alanya ilçesinde 8 (%20) tane seronegatif, 32 (%80) seropozitif saptandı. Demre ilçesinde 14 (%40) tane seronegatif, 21 (%60) seropozitif bulundu.

Döşemealtı ilçesinde 58 (%76,31) tane seropozitif, 18 (%23,68) tane seronegatif örnek belirlendi. Elmalı ilçesinde 12 (%40) seronegatif, 18 (%60) tane seropozitif saptandı. Kepez ilçesinde 13 (%30,23) seronegatif, 30 (%69,76) seropozitif belirlendi. Korkuteli ilçesinde 32 (%61,53) seropozitif, 20 (%38,46) seronegatif belirlendi. Manavgat ilçesinde 18 (%58,06) seropozitif, 13 (%41,93) seronegatif saptandı. Serik ilçesinde 23 (%71,87) seropozitif, 9 (%28,12) seronegatif tespit edildi. Antalya ili merkezinde ise 28 (%60,86) seropozitif, 18 (%39,13) seronegatif belirlendi. Kan serum örneklerinin Antalya ili ve çevresine göre serolojik olarak dağılımı Tablo 2' de sunulmuştur. (Tablo 2).

Serolojik bulguların ırklara göre dağılımına bakıldığında; holstein ırkı sığırlardan 297 adet numune alınmış olup 211 (%71,04) tanesi seropozitif, 86 (%28,95) tanesi seronegatif olarak belirlendi. Simental ırkı sığırlardan 96 adet kan numunesi alındı 65 (%67,70) tanesi seropozitif, 31 (%32,29) tanesi seronegatif tespit edildi. Yerli kara ırkıdan 44 tane kan numunesi alındı 25 (%56,81) tanesi seropozitif, 19 (%43,18) tanesi seronegatif olarak saptandı. Diğer ırklardan alınan 33 tane kan numunesinden 21 (%63,63) tanesi seropozitif, 12 (%36,36) tanesi seronegatif olarak bulundu. Seropozitif ve seronegatif hayvanların ırklara göre sayısal ve oransal dağılımı tablo 3'te sunulmuştur. (Tablo3).

Tablo 3. Seropozitif ve seronegatif hayvanların ırklara göre sayısal ve oransal dağılımı.

İrk	Seropozitif		Seronegatif	
	Hayvan Sayısı	Oran (%)	Hayvan Sayısı	Oran (%)
Holstein	211	71,04	86	28,95
Simental	65	67,70	31	32,29
Yerli Kara	25	56,81	19	43,18
Diğer	21	63,63	12	36,36
Toplam Sayı	322		148	

Serolojik bulguların yaş aralığına göre dağılımında 6ay-3yaş grubu arasında 330 adet hayvandan 210 (%63,63) tanesi seropozitif, 120 (%36,36) tanesi seronegatif olarak belirlendi. 3-6 yaş grubu arasında 74 hayvandan 61 (%82,43) tanesinde seropozitiflik, 13 (%17,56) tanesinde

seronegatiflik bulundu. 6 yaş ve üzerindeki grupta ise 66 hayvandan 51 (%77,27) tanesi seropozitif, 15 (%22,72) tanesi seronegatif olarak belirlendi. Seropozitif ve seronegatif hayvanların yaş grupları arasında sayısal ve oransal dağılımı Tablo 4'te sunulmuştur. (Tablo 4)

Tablo 4. Seropozitif ve seronegatif hayvanların yaş grupları arasında sayısal ve oransal dağılımı.

Yaş	Seropozitif		Seronegatif	
	Hayvan Sayısı	Oran (%)	Hayvan Sayısı	Oran (%)
6-36 ay	210	63,63	120	36,36
36-72 ay	61	82,43	13	17,56
72 ay ve üzeri	51	77,27	15	22,72
Toplam Sayı	322		148	

Yapılan çalışmada, 470 sığırdan alınan kan örneklerinde; Aksu ilçesinde 9 tane, Döşemealtı ilçesinde 4 tane olmak üzere toplam 13 (%2,76) antijen pozitif hayvan belirlendi. 45 gün sonra bu hayvanlardan tekrar kan numunesi alınarak antijen testi yapıldı ve bu hayvanlarda antijen

yine pozitif bulundu. Bu hayvanlar PI olarak değerlendirildi. Diğer odaklarda PI hayvan belirlenemedi. Persiste enfekte hayvanların Antalya İli ve çevresine göre sayısal dağılımı Tablo 5'te sunulmuştur. (Tablo 5).

Tablo 5. Persiste enfekte hayvanların Antalya İli ve çevresine göre sayısal dağılımı.

Numune Alınan İlçe	Persiste Enfekte Hayvan Sayısı
Aksu	9
Döşemealtı	4
Toplam	13

Tablo 6. Yaş grupları arasında X² testi istatistik tablosu.

Yaş	n	Seropozitif (n)	Seronegatif (n)	P değeri
6 ay- 3 yaş	330	210	120	*
3 – 6 yaş	74	61	13	*
6 yaş ve üzeri	66	51	15	*

*P<0.05

İstatistiksel Değerlendirme

Laboratuvar çalışmaları sonucunda grupları ve ırklar arasında istatistiksel açıdan farkın olup olmadığı Chi-Square (X²) Testi kullanılarak belirlendi. Tablo 6 ve Tablo 7'de sunulmuştur. (Tablo 6 ve 7) Tablo 6'da görüldüğü gibi yaş grupları arasında (p<0.05) istatistiksel önem belirlendi. Ayrıca, yaş ile seropozitif ve seronegatiflik arasındaki korrelasyon testine göre yaş arttıkça seronegatifliğin azaldığı saptandı. Holstein, Simental, Yerli Kara ve diğer ırklar arasında istatistiksel açıdan önem belirlenmedi (P>0,05).

Tablo 7. Irklar arasında X² testi istatistik tablosu.

İrk	n	Seropozitif (%)
Holstein	297	71,04
Simental	96	67,70
Yerli kara	44	56,81
Diğer	33	63,63

Chi-Square=4,064 p= 0.255

Tartışma

Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) etkeni sığırlarda viral diare olarak adlandırılan ve sığırların sindirim sisteminde erozyonlar, iştahsızlık, depresyon, okulonazal akıntı, süt veriminde ani düşüş, ağız mukozasında erozyon, ülser, ateş, aralıklı ishal (Çabalar ve Karaoğlu, 1999; Frederick ve ark., 1999; Karaoğlu, 1998; Yıldırım ve Burgu, 2005), embriyo ölümleri ve geçici infertilite sorunları, fötusun ölümü, mumyalaşması, atık, konjenital anomali ve zayıf buzağı sendromu gibi klinik belirtiler görülmektedir (Frederick ve ark., 1999).

Yapılan çalışmada da hayvan sahiplerinden alınan bilgilere göre hayvanların bazılarında; döl tutmama problemi, ölü doğumlar, buzağılarda gelişme geriliği, ishal bulunmaktadır. Bu belirtiler yetersiz beslenme gibi sebeplerden kaynaklanabileceği gibi birçok bakteriyel veya viral hastalıklardan da kaynaklanabilir. Fakat yapılan bu çalışma sonucunda, BVDV hastalığı seroprevalansının %68,51 ve persiste enfekte (PI) oranının %2,76 çıkması ve hayvan sahiplerinin belirttiği semptomların BVDV hastalığının semptomlarıyla uyumlu olması hastalığın BVDV enfeksiyonundan kaynaklanabileceğini göstermektedir.

BVDV hastalığının seroprevalansının araştırıldığı çalışmalarda bazı Avrupa ülkelerinden; Polonya'da %86 (Polak ve Zmudzinski, 1999), Fransa'nın batısındaki Brittany bölgesinde %84,4 (Beaudeau ve ark., 2001), İsveç'te % 32 (Björkman ve ark., 2000), İspanya'nın Asturias bölgesinde %21 (Mainar-Jaime ve ark., 2001), Litvanya'da %58,2 (Mockeliunie ve ark., 2004), Fransa'nın batısında Britanya Adaları'nda %46,5 (Joly ve ark., 2005), Kuzey Portekiz'in Entre Douro e Minho bölgesinde %46,5 (Riberio-Niza ve ark., 2005), İsveç'te Alp Dağları'nda %5,1 (Siegwart ve ark., 2006) oranında seropozitiflik belirlenmiştir. Amerika Birleşik Devletlerinin farklı eyaletlerinde %55,3 (Sausker ve Dyer, 2002), Brezilya'nın Rio Grande do Sul eyaletinde %56 (Canal ve ark., 1998), Uruguay'da %69 (Guarino ve ark., 2008), Güney Kore'de %58

(Lee ve ark., 2008), Çin'de %53 (Xuhua ve ark., 2018) oranlarında seropozitiflik belirlemişlerdir.

Ülkemizde hastalığın seroprevalansının araştırıldığı çalışmalarda ise Doğu ve Güneydoğu bölgesinde %96,8 (Çabalar ve Karaoğlu, 1999), Anadolu'nun Kuzeydoğu Bölgelerinde %81,62 (Yıldırım ve Burgu, 2005), Aydın ve çevresinde %86 (Tan ve ark., 2006), Samsun'da %53,19 (Okur- Gümüşova ve ark., 2007) seropozitiflik belirlenmiştir. Muğla'da %49,9 (Şişman ve Akkan, 2008), Konya'da %89,80 (Özer ve ark., ark., 2011), Burdur'da %76-81,5 (Öztürk ve ark., 2012), Afyonkarahisar'da %84,6 (Erol ve ark., 2014), Samsun'da %32,41 (Tütüncü ve Yazıcı, 2016), Isparta'da %75,22 (Bilgili ve Mamak 2019), Kars'ta kan serumunda %89,58, süt örneğinde %83,85 (Yılmaz, 2016), Diyarbakır'da %15,65 (Hoşcan Akar, 2017), Samsun'da %40 (Yazıcı ve ark., 2017), Erzurum'da %27 (Kotan, 2018) oranlarında seropozitiflik tespit edilmiştir.

Bu çalışmada BVDV enfeksiyonu seroprevalansı %68,51 olarak tespit edildi. Bu oran Antalya'ya komşu olan Isparta (Bilgili ve Mamak 2019) ve Burdur (Öztürk ve ark., 2012) bölgesindeki seropozitiflik değerlerine yakın iken, Konya (Özer ve ark., 2011), Afyonkarahisar (Erol ve ark., 2014), Aydın (Tan ve ark., 2006), Kars (Yılmaz, 2016) illerinde belirtilen seroprevalanstan düşük, Samsun (Okur- Gümüşova ve ark., 2007; Tütüncü ve Yazıcı, 2016; Yazıcı ve ark., 2017), Muğla (Şişman ve Akkan, 2008), Diyarbakır (Hoşcan Akar, 2017) ve Erzurum (Kotan, 2018) illerindeki seroprevalanstan yüksektir.

Persiste enfekte hayvanların işletmede bulunma oranları dünya genelinde %1-2 arasındadır (Houe, 1999; Witthum ve ark., 2001). Bir sürüdeki seropozitif hayvanların fazla olması o sürüde PI hayvan bulunmasının önemli bir işarettir (Houe, 1999). Yapılan çalışmalara göre; Danimarka'da %1,4 (Houe ve Meyling, 1991), Brezilya'da %0,09-0,13 (Canal ve ark., 1998), İran'da %1,67 (Hashemi ve ark., 2010), Uruguay'da %4,1 (Maya ve ark., 2016), Kolombiya'da %7 (Barbosa ve ark., 2018),

ülkemizde ise Trakya yöresinde %3,07 (Ak ve ark., 2002), Aydın'da %4,9 (Tan ve ark., 2006), Isparta'da %1,09 (Bilgili ve Mamak, 2019) oranında PI hayvan belirlenmiştir.

Bu çalışmada ise 470 hayvandan 13 tanesinde (%2,76) persiste enfekte belirlendi. Bulunan değer Trakya yöresinde (Ak ve ark., 2002) ve Aydın'da (Tan ve ark., 2006) bulunan değerlerden düşük, Isparta'da (Bilgili ve Mamak, 2019) bulunan değerden ise daha yüksektir. Bu oranla diğer çalışmalardaki oranların farklılığı daha önce yapılmış olan çalışmalara istinaden PI olanların sürüden uzaklaştırılmış olması veya daha önce PI tespiti için araştırmanın yapılmamış olması ve hastalıkla ilgili kontrol ve koruma önlemlerinin yeterli alınmadığından kaynaklanmaktadır.

İrklara göre hastalığın seroprevalansı değerlendirildiğinde; holstein ırkı sığırlardan alınan 297 adet kan serum örneklerinden 211 (%71,04) tanesi seropozitif ve 86 (%28,96) seronegatif olarak tespit edildi. Simental ırkından alınan 96 adet kan serumu örneklerinin 65 (%67,71) tanesi seropozitif ve 31 (%32,29) tanesi seronegatif olarak belirlendi. Yerli Kara ırkında 44 tane kan numunesinin 25 (%56,82) tanesi seropozitif ve 19 (%43,18) tanesi seronegatif bulundu. 33 tane diğer ırklardan alınan kan örneklerinde ise 21 (%63,64) seropozitif ve 12 (%36,36) seronegatif olarak tespit edildi. Holştayn, Simental, Yerli Kara ve diğer ırklar arasında yapılan (X²) testine göre istatistiksel açıdan önem belirlenmedi (p>0,05).

Fakat Şişman ve Akkan (2008)'nın ve Bilgili ve Mamak (2019)'ın yaptığı çalışmalarda bu çalışmadan farklı olarak ırklar arasında istatistiksel açıdan önem olduğu bildirilmiştir. Bu farklılıklar, çalışmalardaki örneklemede toplam hayvan sayısının ırklara göre dağılım oranının dengesizliğinden kaynaklanabilir.

Yaş aralığına göre hastalığın seroprevalansının dağılımında; 6 ay-3 yaş grubu arasında 330 adet hayvandan 210 (%63,63) tanesi seropozitif, 120 (%36,36) tanesi seronegatif, 3-6 yaş grubu arasında 74 hayvandan 61 (% 82,43) tanesi

seropozitif, 13 (%17,56) tanesi seronegatif olarak tespit edildi. 6 yaş ve üzerindeki grup arasında ise 66 hayvandan 51 (%77,27) tanesi seropozitif, 15 (%22,72) tanesi seronegatif olarak bulundu. Yaş grupları arasında yapılan (X²) testine göre istatistiksel açıdan önem tespit edildi (p<0,05). Ayrıca, yaş ile seropozitif ve seronegatiflik arasındaki korelasyon testine göre yaş arttıkça seropozitifliğin arttığı, seronegatifliğin azaldığı belirlenmiştir. Bu bulgular, Mockeliuniene (2004) ve Bilgili ve Mamak (2019)'ın çalışmalarıyla uyumludur.

Sonuç

Antalya ve çevresinde daha önce BVDV enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması yapılmamıştır. Bu çalışma ile Antalya ili ve ilçelerindeki sığır işletmelerinde Bovine Viral Diyare Virus (BVDV) Enfeksiyonu için %68,51 oranında seropozitiflik ve %2,76 oranında PI hayvan tespit edildi. Yapılan çalışmaya göre, Antalya ili ve çevresinde BVDV enfeksiyonu seroprevalansının ve PI oranının diğer bölgelere göre oldukça yüksek olduğu belirlendi. BVD hastalığı üzerine ülkemizde yapılan diğer serolojik çalışmalar da göz önüne alındığında, bu hastalıkla mücadele edilmesi gerektiği ve bu amaçla ülke çapında persiste enfekte hayvanların belirlenerek bir eradikasyon çalışmasının yapılması ülke hayvancılığımız için zorunlu olarak görülmektedir.

Persiste enfekte hayvanların teşhisi ve sürüden uzaklaştırılması, aşılama yoluyla BVDV enfeksiyonuna karşı bağışıklığın artırılması, biyogüvenlik tedbirlerin geliştirilmesi ve uygulanmasını kapsayan 3 temel ilke üzerine koruma ve kontrol programları üzerinde durulmalıdır (Walz ve ark., 2010). Öncelikle PI hayvanlar sürüde tespit edilmeli bu hayvanlar sürüden uzaklaştırılmalı ve böylelikle duyarlı gebe hayvanlara enfeksiyonun bulaşması önlenmelidir. Gebelik döneminde hayvanlara enfeksiyon bulaşmaması için sürüden ayrı tutulmalıdır. BVDV'ne karşı aşı uygulamaları geliştirilmiştir fakat iyi bir aşı transplesantal enfeksiyonu önlemek için dişilere doğumdan

önce uygulamaya elverişli olmalıdır (Ridpath, 2005). Mamak ve ark.(2013), seropozitif sığırlarda yaptıkları aşı çalışmasında antikor titre seviyelerinde belirgin artış meydana geldiğini, bu durumun seropozitif analarda daha uzun süre bağışıklığın, gebelik olgularında daha etkin fetal korumanın sağlanacağını ifade etmişlerdir.

Ülkemizde BVDV hastalığı için hâlâ belirli koruma kontrol programları uygulamaya konulmamış olup, inaktif BVDV aşuları mevcut olmakla yeterli kadar uygulanmamaktadır. İl ve ilçeler arasındaki hayvan hareketliliğinin fazla olması hastalığın yayılmasında etkili rol oynamaktadır. BVDV kontrol ve eradikasyon programlarında asıl amaç persiste enfekte hayvanların uzaklaştırılması ve yeni persiste enfekte buzağı doğumlarının önüne geçilmesidir (Lindberg ve ark., 1999). Viral etkenlerin evcil hayvanlarda oluşturdukları enfeksiyonun tedavi sürecinde maliyetinin fazla olduğu, verim düşüklüğü ve ölümler sebebiyle de ekonomik önem arz ettiği bilinmektedir (Yıldırım ve Burgu, 2005). Bu sebeplerden dolayı BVDV enfeksiyonu Türkiye’de mücadele edilmesi gereken ve koruma, kontrol programlarının geliştirilip uygulanması gereken önemli viral bir hastalıktır.

Teşekkür

Bu çalışma, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından Yüksek Lisans Tez Projesi olarak desteklenmiştir. (Proje No: 0410-YL-17).

Kaynaklar

Ak S., Fırat İ., Bozkurt H.H., Gülyaz V., Ak K., 2002. The prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle and existence of persistently infected cattle in the Trakya Region. Turkish J. Vet. and Anim. Sci., 26, 245-248

Akar Hoşcan Ö., 2017. Diyarbakır ilinde özel aile işletmelerinde sığırlarda BHV-1 ve BVDV enfeksiyonları üzerine serolojik araştırmalar. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun/Türkiye.

Barbosa J.Q., Figueroa A.P.C., Salas S.S., Camargo H. et al. 2018. High prevalence of persistently infected animals from bovine viral diarrhoea in Colombian cattle. BMC Vet. Res.12917-018-1769-5

Beaudeau F., Belloc C., Seegers H., Assie S., Sellal E., Joly A., 2001. Evaluation of a blocking ELISA for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk. Vet. Microbiol., 329-337.

Bilgili İ., Mamak N., 2019. Isparta İli ve Çevresinde Sığırcılık İşletmelerinde Bovine Viral Diyare Virus (BVDV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. MAKU J. Health Sci. Inst., 7(2), 105-113.

Björkman C., Alenius S., Emanuelsson U., Uggla A., 2000. Neospora caninum and Bovine Virus Diarrhoea Virus Infections in Swedish Dairy Cows in Relation to Abortion. The Vet. J. 159, 201–206

Brodersen B., 2014. Bovine viral diarrhoea virus infections: manifestations of infection and recent advances in understanding pathogenesis and control. Vet Pathol., 51, 453-464. DOI:10.1177/0300985813520250.

Canal C.W., Strasser M., Hertig C., Masuda A., Peterhans E., 1998. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. Prev. Vet. Med.,63,85-97.

Cho Y., Yoon K., 2014. An overview of calf diarrhoea infectious etiology, diagnosis, and intervention. J. Vet. Sci.,15(1), 1-17.

Çabalar M., Karaoğlu T., 1999. Sığırlarda bovine viral diarrhoea (BVD) virus enfeksiyonuna karşı antikor varlığının araştırılmasında nötralizasyon peroksidaz (NPLA) ve serum nötralizasyon (SN) testlerinin karşılaştırılması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.,46, 249-255.

Erol N., Gür S., Acar A., 2014. A Serological investigation for Bovine Viral Diarrhoea Virus infection in and around Afyonkarahisar province, West Anatolia. Kocatepe Vet J.,7(1), 17-21.

Evermann J.F., Barrington G.M., 2005. Clinical features. Bovine viral diarrhoea virus: diagnosis, management, and control, Goyal S.M. and Ridpath J. (eds.), Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. 105-119.

Fray M.D., Prentice H., Clarke M.C., Charleston B., 1998. Immunohistochemical evidence for the

localization of Bovine Viral diarrhoea virus, a single-stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. *Vet. Pathol.*,35, 253-259.

Frederick A., Murphy E., Paul J.G., Marian C.H., Michael J.S., 1999. *Veterinary Virology*, Third Ed., Academic Press An Imprint of Elsevier, 563-566 San Diego, California USA.

Fredriksen B., Sandvik T., Loken T., Odegaard S.A., 1999. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.*, 144, 111-114.

Greiser-Wilke I., Grummer B., Moennig V., 2003. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. *Biologicals.*,31, 113–118.

Guarino H., Nunez A., Repiso M.V., Gil A., Dargatz D.A., 2008. Prevalence of serum antibodies to Bovine Preventive Veterinary Medicine, 34–40.

Hashemi Tabar G.R., Haghparast A., Naseri Z., 2010. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies and antigen among the aborted dairy cows in industrial dairy cattle herds in Mashhad Area-Iran. *World Applied Sci. J.*, 8(5), 635-640

Houe H., Meyling A., 1991. Prevalence of Bovine Virus Diarrhoea (BVD) in 19 Danish Dairy Herds and Estimation of Incidence of Infection in Early Pregnancy. *Prev. Vet Med.*,11, 9-16

Houe H., 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.*,64(2-3), 89-107.

Joly A., Fourichon C., Beaudeau F., 2005. Description and first results of a BVDV control scheme in Brittany (Western France). *Prev. Vet Med.*,72, 209-213.

Kameyama K., Konishi M., Tsutsui T., Yamamoto T., 2016. Survey for detecting persistently infected cattle with bovine viral diarrhoea in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 78, 1329–31.

Karaoğlu T., 1998. Sahadan izole edilen bovine viral diarrhoea virus (BVDV) izolatlarının immunoplak test ile biyotipik tayini. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*,45, 323- 332.

Kotan G.C., 2018. Erzurum Yöresi sığırlarında Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV)'un varlığının immunohistokimyasal yöntemle araştırılması. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum/Türkiye.

Lee D.H., Park S.W., Choi E.W., Lee C.W., 2008. Investigation of the prevalence of bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in South Korea. *Vet. Rec.*,162, 211-213.

Lindberg A.L., Alenius S., 1999. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations, *Vet. Microbiol.*, 64, 197-222.

Mainar-Jaime R.C., Berzal-Hernandez B., Arias P., Rojo-Vazquez F.A., 2001. Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated

dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Prev. Vet. Med.*,52, 63-73.

Maya L., Puentes R., Reolon E., Acuna P., Riet F., Rivero R., et al. 2016. Molecular diversity of bovine viral diarrhoea virus in Uruguay. *Arch Virol.* 161, 529–35.

Mamak N., Hasircioglu S., Gokce H.I., Yavru S., Kale M., Yildiz R., Avci O., Bulut O., Yapici O., Şimşek A., 2013. The effect of vaccination on the immune response of dairy cattle seropositive to Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV). *Journal of Animal and Veterinary advanced.*,12(13), 1151-1155.

Milli Ü.H., Hazıroğlu R., 2000. Veteriner Patoloji, Cilt 1, İkinci Baskı, Özkan Matbaacılık, Ankara, 15-18.

Mockeliuniene V., Salomskas A., Mockeliunas R., Petkevicius S., 2004. Prevalence and Epidemiological Features Of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection in Lithuania, *Vet Microbiol.*,99, 51–57.

Okur-Gümüsova S., Yazıcı Z., Albayrak H., Cakiroglu D., 2007. Seroprevalence of bovine respiratory diseases, *Acta Veterinaria (Beograd)*, 57, 11-16.

Otachel-Hawranek J., 2004. Reproductive losses in dairy cattle infected with BVD-MD virus-a field study. *Bull. Vet. Pulawy.*, 48, 355-359.

Özer E., Duman R., 2011. Konya ve çevresinde Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) enfeksiyonunun araştırılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya/Türkiye.

Öztürk D., Kale M., Pehlivanoglu F., Hasircioglu S., Türütoglu H., 2012. Evaluation for Some Bacterial and Viral Abortions of Dairy Cattle Farms in Burdur District of Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*,18(2), 255-258.

Passler T., Walz P., Ditchkoff S., Givens M., Maxwell H., Brock K., 2007. Experimental persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in White tailed deer. *Vet. Microbiol.*,122, 350-356.

Polak M.P., Zmudsinski J.F., 1999. Prevalance of bovine viral diarrhoea virus infection in bulls in artificial insemination centers in Poland. *Vet. Microbiol.*,64(2), 253-257.

Radostits O.M., Blood D.C., 1989. *Veterinary Medicine.* Seventh ed. Bailliere and Tindall., 845-857.

Radositist O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., Constable P.D., 2006. *Veterinary Medicine, A Textbook of the diseases of cattle, horse, sheep, pigs and goats.* Saunders ltg., Philadelphia, 1248-1277.

Ribeiro-Niza J., Pereira A., Souza J., Maderia H., Barbosa A., Afonso C., 2005. Estimated BVDV prevalence, -contact and- vaccine use in dairy herds in Northern Portugal. *Prev. Vet. Med.*,72,81-85.

Ridpath J.F., 2005. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: Impact of biotype and genotype on U.S.control programs. *Prev. Vet. Med.*,72, 17-30.

Ridpath J.F., Fulton R.W., Kirkland P.D., Neill J.D., 2010. Prevalence and antigenic differences observed between Bovine Viral diarrhoea virus subgenotypes isolated from cattle in Australia and feedlots in the southwestern United States. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 22, 184-191

Rodning S.P., Marley M.S., Zhang Y., Eason A.B., Nunley C.L., Walz P.H., Riddell K.P., Galik P.K., Brodersen B.W., Givens M.D., 2010. Comparison of three commercial vaccines for preventing persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology.*,73(8), 1154-11636.

Sausker E.A., Dyer N.W., 2002. Seroprevalence of OHV-2, BVDV, BHV-1 and BRSV in ranch-raised bison (*Bison bison*). *J. Vet. Diagn. Invest.*,14, 68-70.

Siegwart N., Hilbe M., Hassig M., Braun U., 2006. Increased risk of BVDV infection of calves from pregnant dams on communal Alpine pastures in Switzerland. *The Vet. J.*, 172, 386-388.

Şişman H., Akkan H.A., 2008. Muğla İli ve çevresinde sığırçılık işletmelerinde Bovine Viral Diyare (BVDV) enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van/Türkiye*

Tan M.T., Karaoğlu T., Erol N., Yıldırım Y., 2006. Serological and virological investigations of

bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydın province. *Turk J. Vet. Anim. Sc.*,30, 299-304.

Tütüncü H., Yazıcı Z., 2016. Screening For Persistently Infected Cattle With Bovine Viral Diarrhoea Virus In Small-Holder Cattle Farms Located In Samsun Province, Northern Turkey. *The J. of Anim. & Plant Sci.*, 26(1): 2016, Page: 291-293 ISSN: 1018-7081

Van Regenmortel M.H.V., Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Carstens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D.J., Pringle C.R., Wickner R.B., 2000. *Virus Taxonomy: Classification Nomenclature of Viruses.* San Diago, Calif, Academic Press.

Walz P.H., Grooms D.L., Passler T., Ridpath J.F., Tremblay R., Step D.L., Callan R.J., Givens M.D., 2010. Control of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Ruminants. *J. Vet. Intern Med.*,24, 476-486.

Witthum T.E., Grotelueschen D.M., Brock K.V., Kvasnicka W.G., Floyd J.G., Kelling C.L., Odde K.G., 2001. Persistent bovine viral diarrhoea virus infection in US beef herds. *Prev. Vet. Med.*,49,83-94.

Xue W., Mattick D., Smith L., Maxwell J., 2009. Fetal protection against bovine viral diarrhoea virus types 1 and 2 after the use of a modified-live virus vaccine. *Can. J. Vet. Res.*,73, 292-297.

Xuhua R., Xiaohong C., Lili M., Xiaobo W., Junjun Z., Miaomiao W., Xiaodan T., Guangyu H., Hongbo N., 2018. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle in China. *S0001-706X(18)30908-2* <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.08.031>

Yazıcı Z., Serdar M.S., Gümüşova S., Albayrak H., 2012. Molecular diagnosis and seroepidemiology of pestivirus in sheep. *Vet. Arhiv.* 82:35-45.

Yazıcı Z., Gumusova S., Tamer C., Çağırğan A.A., Akman A., Ozan E., Kadı H., Palancı H.S., Albayrak H., 2017. Department of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ondokuz Mayıs, Samsun, Turkey Virology Laboratory, Samsun Veterinary Control Institute, Samsun, Turkey.

Yıldırım Y., Burgu İ., 2005. Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda mavi dil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*,52, 113-117.

Yılmaz V., 2016. Prevalence of antibodies to Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in blood and milk

MAKU J. Health Sci. Inst. 2020, 8(3): 128-137.
doi: 10.24998/maensabed.757188

serum in dairy cattle in Kars district of Turkey. *Indian J. Anim. Res.*, 50 (5) 2016 : 811-81.